

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1932-1933.

N° 2.

LA PETITE PERVENCHE

VINCA MINOR L.

ÉTUDE HISTORIQUE ET CHIMIQUE

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 2 décembre 1932

PAR

FRÉDÉRIC RUTISHAUSER

PHARMACIEN DIPLOMÉ DE LA CONFÉDÉRATION SUISSE

JURY { MM. EM. PERROT, Président;
GORIS, Professeur;
DELABY, Agrégé.

PARIS

A. MARETHEUX ET L. PACTAT, IMPRIMEURS

1, RUE CASSETTE, 1

1932

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1932-1933.

N° 2.

LA PETITE PERVENCHE

VINCA MINOR L.

ÉTUDE HISTORIQUE ET CHIMIQUE

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 2 décembre 1932

PAR

FRÉDÉRIC RUTISHAUSER

PHARMACIEN DIPLOMÉ DE LA CONFÉDÉRATION SUISSE

JURY { MM. EM. PERROT, Président;
GORIS, Professeur;
DELABY, Agrégé.

PARIS

A. MARETHEUX ET L. PACTAT, IMPRIMEURS

1, RUE CASSETTE, 1

1932

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GUÉRIN, *Doyen*, *, ① I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. *, ① I.
P. DESPORT, *Secrétaire*, *, ① I.

PROFESSEURS :

MM. GUÉRIN, *, ① I.	Botanique générale.
BÉHAL, G. O. *, ① I.	Chimie organique.
Membre de l'Institut.	
PERROT, O. *, ① I.	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, O. *, ① I.	Zoologie.
LEBEAU, O. *, ① I.	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, *, ① I.	Chimie analytique.
GORIS, *, ① I.	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *, ① I.	Physique.
DAMIENS, *, ① I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. *, ① I.	Chimie biologique.
SOMMELET, *, ① I.	Hydrologie et Hygiène.
LUTZ, *, ① I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, ① I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, ① I.	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, *, ① I.

Professeurs honoraire : MM. DELÉPINE, O. *, ① I et GUERBET, *, ① I.

CHARGÉS DE COURS :

MM. Marc HONNORAT, *, ① I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. *, ① I.	Pharmacodynamie.
DELABY, *, ① I.	Minéralogie.
BACH, ① I.	Microbiologie.
PICON, ① I.	Chimie minérale.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM. DELABY, *, ① I.	MM. BACH, ① I.
PICON, ① I.	BEDEL, ① I.
MASCRE, ① I.	RÉGNIER, ① I.
FLEURY, ① I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES :

MM. BEDEL, ① I., *agrégé*, chargés des T. P. de 1^{re} année Chimie générale.
FLEURY, ① I. et REGNIER, ① I., *agrégés*,
chargés des travaux de Chimie analytique.
SOUÈGES, ① I. Micrographie.
LEROUX, ① I. Physique.
DEVAL, *, ① I. Microbiologie.
DELABY, *, ① I., PICON, ① I. et MASCRE, ① I. :
agrégés, chargés des travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en chef : M. BERNARD, ① I.



A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR EM. PERROT

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

DE L'ACADÉMIE D'AGRICULTURE

ET DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES COLONIALES

DIRECTEUR DE L'OFFICE NATIONAL DES MATIÈRES PREMIÈRES VÉGÉTALES

Très respectueux Hommage.

A M. LE DOCTEUR PAUL BOURCET

Hommage de vive gratitude.

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A MON PÈRE

A MA BELLE-MÈRE

MEIS ET AMICIS



INTRODUCTION

Après avoir, en 1930, obtenu à l'École Polytechnique fédérale, à Zurich, mon diplôme de pharmacien de la Confédération Suisse, je n'ai pas pensé que mon instruction scientifique soit terminée, mais j'ai voulu me faire personnellement une opinion plus complète sur le côté pratique et les exigences scientifiques de ma profession. Et, en travaillant à l'officine, je me suis vite aperçu que, parmi d'autres lacunes, il me manquait encore des notions claires sur la Phytochimie, ce vaste champ qui touche de si près la Pharmacie.

En revisant mes connaissances pharmacologiques et pharmacognostiques, maintes fois je me suis demandé : est-ce que ces corps que j'utilise existent vraiment dans la plante vivante et sous quelle forme existent-ils ? Cette plante séchée de mes tiroirs, cet extrait préparé avec les fragments d'une plante morte, donnent-ils le maximum de leur action thérapeutique ?

Ces questions et ces théories ont souvent fait l'objet de discussions avec mon ami, le Dr Hans FLÜCK, privat-docent et chargé de cours à l'École Polytechnique fédérale. Et c'est lui qui, ayant eu lui-même l'occasion de travailler près de ce maître, m'a orienté vers l'éminent savant qu'est M. Émile PERROT, professeur de Matière médicale à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Paris. Je remercie tout spécialement mon ami d'avoir envoyé le jeune pharmacien dans ce centre d'idées nouvelles, approfondies et justes, qu'est le laboratoire de M. le professeur PERROT. Voulant connaître ces idées, encore insuffisamment répandues dans mon pays, j'ai donc tenu à travailler sous son égide.

L'accueil le plus aimable m'attendait, moi, l'étranger, d'une formation professionnelle un peu différente. C'est avec une généreuse hospitalité, qui est bien un trait caractéristique non seule-

ment des milieux universitaires français, mais du peuple français tout entier, que j'ai été reçu. M. le professeur PERROT, et avec lui ses collaborateurs, n'ont jamais cessé de m'encourager; ils ont mis à ma disposition non seulement les ressources d'un laboratoire, mais toutes leurs connaissances, leur expérience et leur érudition. Travailler dans cette atmosphère de bienveillance et d'encouragement, toute chargée d'idées et pénétrée d'une haute conscience scientifique, c'est un véritable plaisir, et le travail que j'ai l'honneur d'exposer n'est qu'une partie de tout ce que j'ai eu l'occasion d'apprendre.

Je voudrais savoir mieux exprimer la profonde reconnaissance que je dois à M. le professeur Émile PERROT, pour tout ce qu'il a fait pour moi, pour son inlassable encouragement, pour ses idées et conceptions si justes, qu'il m'a toujours prodiguées; aussi j'espère qu'il me sera donné dans l'avenir de mettre à profit mon séjour en utilisant le temps qu'il me sera donné de réserver au laboratoire à la recherche originale.

A M. le professeur A. GORIS, professeur de Pharmacie galénique, pharmacien en chef des Hôpitaux et Hospices civils de Paris et à M. le professeur agrégé R. DELABY, chargé de cours à la Faculté de Pharmacie, j'exprime mes remerciements les plus respectueux, pour avoir bien voulu faire partie du Jury de cette Thèse.

Que M. le D^r BOURCET trouve ici tous mes sentiments d'une reconnaissance émue. Collaborateur intime et apprécié de M. le professeur PERROT, il a mis à ma disposition, avec toute sa simplicité et sa bienveillance naturelle, toutes ses connaissances si abondantes en phytochimie. Il a été pour moi un ami paternel, qui, par ses conseils, fruit d'une expérience mûre, par ses remarques judicieuses, a jeté bien souvent la lumière sur des points qui me paraissaient obscurs.

Je remercie également M. le D^r WEITZ, assistant au laboratoire, pour l'amabilité avec laquelle il m'a toujours prodigué son aide cordiale et bienveillante et le secours de ses vastes connaissances.

PLAN DE L'OUVRAGE

	Pages
INTRODUCTION.	7

PREMIÈRE PARTIE

1. Historique	11
2. Description botanique de la plante	17

DEUXIÈME PARTIE

Étude chimique de l'Intrait.

CHAPITRE PREMIER. — <i>Choix de la matière première pour l'étude chimique.</i>	
<i>Plante stabilisée et Intrait.</i>	19
Propriétés de l'Intrait	20
La solution aqueuse de l'Intrait.	23
a) Recherche des saponines	23
b) Essais préliminaires	24
CHAPITRE II. — <i>Hydrates de carbone</i>	26
a) Hydrolyse de l'Intrait	26
b) Recherche des divers glucides	27
c) Dosage des monosaccharides	31
CHAPITRE III. — <i>Les Tanoides</i>	34
a) Préparation.	34
b) Propriétés	35
c) Caractérisation	38
d) Hydrolyse	41
CHAPITRE IV. — <i>Le Glycoside</i>	49
a) Préparation.	49
b) Propriétés	51
c) Analyse.	52
CHAPITRE V. — <i>Fraction de l'Intrait non précipitable par les sels de plomb.</i>	56

TROISIÈME PARTIE

Étude chimique du résidu du lavage de l'Intrait par l'éther.

a) Acides aliphatiques	59
b) Acide pyrocatechine-carbonique	68
c) Acide succinique	69
d) Phytostérol	70
CONCLUSIONS	73
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.	75

LA PETITE PERVENCHE

VINCA MINOR L.

ÉTUDE HISTORIQUE ET CHIMIQUE

PREMIÈRE PARTIE

1. HISTORIQUE.

La *Petite Pervenche*, aujourd'hui presque complètement délaissée par la Thérapeutique moderne, a tout de même le bon droit d'être fière d'un passé où elle jouissait de la haute estime des disciples d'ESCUAPE. Déjà les médecins de l'Antiquité lui reconnaissaient certaines vertus; les médecins du Moyen âge l'employaient couramment; ceux de la Renaissance la prênaient et ce n'est qu'au commencement du xix^e siècle, si prodigue en produits thérapeutiques nouveaux, soit de synthèse, soit retirés des plantes d'outre-mer, qu'elle est tombée à peu près complètement dans l'oubli. Aujourd'hui, elle n'est plus guère employée que dans la médecine populaire, qui en fait, surtout dans le Midi, une sorte de panacée; les bonnes femmes de la campagne la recommandent comme galactagogue tandis que, dans d'autres contrées, elle est utilisée comme antilaiteuse, seule ou associée à la Canne de Provence et au sulfate de soude ou à celui de magnésie.

N'oublions pas pourtant de dire que, si la *Petite Pervenche* est estimée comme vulnérable ou galactagogue chez tant de peuples d'Europe, elle fait, dans certaines contrées, figure d'une plante vénérée, pouvant influencer le destin : maintes vieilles coutumes de l'Allemagne du Sud, du Tyrol et de l'Angleterre en

témoignent, et l'une de ses dénominations populaires, *Violette des Sorciers*, n'indique-t-elle pas les vertus surnaturelles qui ont été attribuées à cette plante?

Abstraction faite des superstitions que les populations rurales y attachent, même si les propriétés thérapeutiques d'autres Apocynées l'éclipsent et si elle ne peut se mesurer avec les médicaments héroïques de cette famille, comme le *Strophanthus* par exemple, mérite-t-elle l'oubli dans lequel elle est à présent tombée?

Une courte revue rétrospective des ouvrages des anciens maîtres présente l'intérêt de donner quelques indications quant à sa valeur et à son emploi thérapeutique.

Déjà DIOSCORIDE, qui a connu la Petite Pervenche et l'a décrite sous le nom de *Clematis*, ne tarit pas d'éloges à son sujet, comme le prouvent ces lignes extraites de l'un de ses commentateurs (1) : « Ses feuilles, et ses tiges beues en vin, restreignent la dysenterie, et autres flux du corps. Appliquées par dessous en pessaires avec lait, et huille Rosat, et onguent de Troesne appaisent les douleurs de la matrice. Maschées, elles allègent la douleur des dents. L'on les emplastre (avec utilité) à la morsure des serpens venimeux. »

GALIEN a, comme le rapporte LÉONHARD FUCHS (2), à peu près la même opinion. Et c'est lui-même qui résume si bien les qualités hémostatiques que l'ancienne médecine attribuait à la Pervenche : *In summa omnem sanguinis fluxum folia eius sistere asserit.*

Petrus PÉNA et Mathias DE LOBEL (3) spécifient : *Sanguinem e naribus fluentem sistet. Menstrua cohibet, abortumque inhibet.* Et comme eux, leur contemporain JOHANNES COSTAECUS (4) insiste sur ces propriétés hémostatiques.

C'est chez ADRIAN SPIGHEL (5) que nous trouvons les premières

1. *Les six livres de Pedacion DIOSCORIDE, d'Anazarbe, de la Matière Médicinale*, translatez de Latin en François, par D. Martin MATHEE, médecin. Lyon, 1559, Livre IV, chap. 6, p. 343.

2. *De Historia Stirpium Commentarii insignes*, Leonharto FUCHSIO autore. Lugduni, 1547, p. 196.

3. *Stirpium adversaria nova*, par Petrus PÉNA et Matthia DE LOBEL. Londini, 1570, p. 232.

4. JOHANNIS COSTAEI Laudensis, *De Universale Stirpium natura*. Augustæ Taurinorum, 1578, p. 296.

5. ADRIANI SPIGELII Bruxellensis, *Isagoges in rem herbariam libri duo*. Patavii, 1606, p. 89.

allusions à la valeur de la plante comme galactagogue; il dit en effet : *Vinca peruinca quæ in aqua aut iure carnis cocta lac in mammis extinctum reuocat*; mais il ajoute prudemment : *Etsi nil, aut parum nutriat*.

D'AQUEPENDENTE ⁽¹⁾ est plus affirmatif : « Outre ce, pour attirer particulièrement le lait, mesmes en celles-là ausquelles il s'est perdu trop tost, pour quelle cause que ce soit, le lait a accoustume de reuenir, usant de *Vinca pervinca*, ou en salades, ou cuite, ou en bouillon, ou en des apprests. »

Joseph NECKER ⁽²⁾ la dit, employée en infusion, un excellent remède contre les fleurs blanches qui proviennent d'un simple relâchement.

PITTON DE TOURNEFORT ⁽³⁾, l'une des lumières médicales de son temps, signale les qualités dépuratives de cette plante. Il recommande l'infusion avec l'eau tiède pour « fomentier les hémorroïdes ». Et il dit plus loin : « Cette plante est vulnérable, astringente, fébrifuge, pour le crachement de sang, pour le flux immodéré des hémorroïdes, des ordinaires, des fleurs blanches », mais pour cet emploi il recommande l'infusion d'eau bouillante. « Pour l'hémorragie du nez, on met dans cette partie un tampon de feuilles pilées. Le lait coupé avec la décoction est bon pour les phthisiques. On l'ordonne aussi dans la dysenterie, et l'on en fait gargariser la bouche de ceux qui ont des maux de gorge. Contre l'hydropisie, on distille le lait dans lequel on a fait macérer pendant un jour des feuilles de Pervenche, de Tanaisie et d'Eupatoire... »

La Pervenche appliquée sur les mamelles fait venir le lait aux nourrices...

AGRICOLA donne les gargarismes pour le plus souverain de tous les remèdes qu'on puisse employer dans l'esquinancie où l'on est menacé de suffocation. »

Dom Nicolas ALEXANDRE ⁽⁴⁾ ne peut que certifier les indications de TOURNEFORT; il dit principalement : « La Pervenche est rafraîchissante, dessiccative, détersive, astringente, vulnérable par

1. Hierosme Fabrice D'AQUAPENDENTE. *Œuvres chirurgicales*. Lyon, 1658, p. 687.

2. Josephi DE NECKER. *Deliciæ Gallo-Belgicæ silvestres*. Argentorati, 1768, p. 127.

3. PITTON DE TOURNEFORT. *Traité de la Matière médicale*. Paris, 1717, 2, p. 146 et 299-300.

4. DOM NICOLAS ALEXANDRE. *Dictionnaire botanique et pharmaceutique*. Paris, 1759, p. 404.

excellence, propre pour les cours de ventre, la dysenterie, le crachement de sang, pour purifier le sang, pour les ulcères du poumon; elle convient aux plaies et aux ulcères, tant dans les potions vulnéraires, que pour mondifier et consolider. Son suc entre dans les clystères contre la dysenterie, quand il est tems de consolider les petits ulcères de l'intestin. On s'en sert extérieurement pour arrêter les hémorragies de quelle partie que ce soit. Si la luette est enflammée et allongée, on fait bouillir de la Pervenche pour gargariser la tumeur. Ce gargarisme tire une quantité prodigieuse de pituite visqueuse, et par ce moyen, remet les parties et rend le passage de l'air libre. Une feuille ou deux, mises sous la langue, arrêtent l'hémorragie du nez. Pour la pleurésie, broyez-en une poignée, faites-la tremper dans du vin blanc, passez la colature et donnez au malade avant le quatrième jour, couvrez-le bien, et le faites suer. »

Et toutes ces vertus n'existaient pas seulement dans les manuels médicaux, elles étaient aussi connues et utilisées. M^{me} DE SÉVIGNÉ recommande la Petite Pervenche dans une lettre à sa fille, M^{me} DE GRIGNAN, « pour rafraîchir une poitrine enflammée » et, dans une autre lettre, « contre les maux de gorge ». J.-J. ROUSSEAU la cite, et, dans les hôpitaux militaires⁽¹⁾, elle était réglementaire.

Au XIX^e siècle, toute la vieille médecine des simples est abandonnée, et avec eux notre Petite Pervenche. Elle tombe au rang d'un simple remède de bonne femme.

Elle ne possède même pas assez d'intérêt pour qu'on essaye d'en tirer quelque principe défini utilisable en thérapeutique. Peut-être a-t-on fait des essais dans ce sens, mais on a certainement vite délaissé ces expériences, certaines plantes plus actives ou exotiques donnant des résultats plus apparents. On avait coutume, en effet, de considérer les recherches phytochimiques à cet unique point de vue, ce qui a fait dédaigner par les chercheurs les matières premières ou les substances chimiques qui ne possédaient pas une activité thérapeutique très nette, sans que pourtant elles en soient complètement dépourvues.

Bien d'autres plantes que la Petite Pervenche ont subi le même sort; une meilleure connaissance de leur constitution chimique pourra seule permettre de conclure définitivement.

1. *Formules de Pharmacie pour les hôpitaux militaires du Roy*. Paris, 1747.

La seule tentative qui nous soit connue date de 1859. M. LUCAS⁽¹⁾ a publié une « analyse » se basant sur la vieille méthode de STAAS. Nous ne risquons rien de le rappeler ici dans la partie historique, car elle est aussi élémentaire que dépourvue de tout intérêt scientifique.

On coupe finement 12 onces de feuilles fraîches, on les écrase et on les couvre de 18 onces d'alcool à 80 %. Après un contact prolongé à une température modérée, on décante la teinture alcoolique, qui est d'un beau vert; on exprime les feuilles et renouvelle l'extraction par la même quantité d'alcool. Les deux extractions réunies et filtrées sont additionnées d'un drachme d'acide tartrique et on laisse évaporer à une température ne dépassant pas 35° R. Quand le volume est réduit à 1-1 once 1/2, on débarrasse la solution des résines et de la chlorophylle par filtration et l'on ajoute au liquide filtré 1 drachme 1/2 de bicarbonate de sodium pour sursaturer l'acide tartrique. Le liquide ainsi obtenu, d'une certaine consistance, est mis dans un verre et additionné d'une quantité suffisante d'éther. On agite, décante et répète l'addition d'éther. Les liqueurs éthérées, qui représentent environ 1 once 1/2, sont réunies et évaporées. Il reste dans la capsule un vernis brun clair. LUCAS a essayé de le dissoudre dans quelques gouttes d'acide sulfurique dilué. Il a obtenu un liquide jaune, très amer, donnant par addition d'ammoniaque un précipité blanc rougeâtre qui, après dessiccation et trituration, se présentait sous forme d'une poudre blanc grisâtre qu'il soupçonna d'être électrique parce qu'elle adhéraît au pilon.

Il a ainsi obtenu 4 grains (0 gr. 20) d'un corps qui contenait encore des produits résineux, soluble dans l'alcool, l'éther, difficilement dans l'eau. Cette solution ne donna pas de cristaux par évaporation.

C'est, on le voit, un résultat aussi maigre qu'incertain. Et, fait curieux, aucun des auteurs des divers ouvrages concernant la Matière médicale n'a jugé utile de réviser les résultats.

DRAGENDORFF⁽²⁾ et même FEHLING⁽³⁾ et WEHMER⁽⁴⁾ ne peuvent citer que les résultats de LUCAS.

1. H. LUCAS. Ueber den Bitterstoff der Blätter von *Vinca minor* L. *Archiv der Pharmacie*, 1859, **147**, p. 147-150.

2. G. DRAGENDORFF. *Die Heilpflanzen*. Stuttgart, 1898, p. 539.

3. H. FEHLING. *Neues Handwörterbuch der Chemie*. Braunschweig, 1912, **9**, p. 326.

4. J. WEHMER. *Die Pflanzenstoffe*. Iéna II, 1931, p. 983.

L. PLANCHON ⁽¹⁾, ne pouvant se baser sur aucun travail précis, se contente de citer et résumer les appréciations des anciens médecins, en énumérant les propriétés amères, astringentes, toniques et laxatives de la Petite Pervenche. Il ajoute, du reste, « qu'une étude des feuilles s'impose ».

THOMS ⁽²⁾ énumère comme corps entrant dans la Petite Pervenche un principe amer : la Vincine, du tanin et de la carotine, le dernier corps a d'ailleurs bien été identifié par ARNAUD ⁽³⁾, mais dans le *Vinca major*.

KOFLER ⁽⁴⁾ indique que la Petite Pervenche contient des saponines et il se réfère à KUNKEL ⁽⁵⁾, mais celui-ci est assez imprécis. « On a démontré, dit-il, la présence de deux glycosides, la Vincine et la Vincéine qui semblent toutefois, d'après des essais thérapeutiques antérieurs, appartenir au groupe des saponines ». Cet auteur n'indique pas la source de ses renseignements et FRIEBÖES ⁽⁶⁾ ne fait que répéter les indications de KUNKEL.

HEGI ⁽⁷⁾ ajoute à quelques emplois populaires et renseignements techniques l'utilisation de l'essence de la Petite Pervenche en homœopathie et remarque qu'on l'avait déjà proposée comme succédané du Thé.

Comme on le voit, la place qu'occupe actuellement la Petite Pervenche dans le jardin d'ESCULAPE est assez modeste et les connaissances sur sa composition chimique sont pour ainsi dire minimes.

Ce sont deux médecins français qui ont essayé ces dernières années d'attirer l'attention sur un emploi thérapeutique possible du *Vinca minor*. Le D^r Georges PETIT ⁽⁸⁾ a publié, en 1922, un article dans lequel il démontre l'efficacité de la drogue, essayée à plusieurs reprises chez des sujets tuberculeux en période hémoptoïque et il croit qu'elle ne présente pas les inconvénients

1. L. PLANCHON. Produits fournis à la Matière médicale par la famille des Apocynées. Montpellier, 1894, p. 275.

2. H. THOMS. Handwörterbuch für die wissenschaftliche und praktische Pharmazie. Berlin und Wien, 1924, 5, (2), p. 1471.

3. A. ARNAUD. Recherches sur la carotine; son rôle physiologique probable dans la feuille. C. R. Ac. Sc., 1889, 109, p. 911.

4. L. KOFLER. Die Saponine. Wien, 1927, p. 8.

5. A. KUNKEL. Handbuch der Toxikologie. Iéna, 1901, p. 918.

6. W. FRIEBÖES. Beiträge zur Kenntnis der Guajakpräparate. Stuttgart, 1903, p. 52.

7. G. HEGI. Illustrierte Flora von Mitteleuropa, München, 1924, V, 3, p. 2051.

8. Georges PETIT. La Petite Pervenche et son action anti-hémorragique, *Courrier médical*, 1922, 47, p. 541.

qu'on reproche à l'ergot et à l'ergotine. Le D^r Henri LECLERC ⁽¹⁾ a réservé dans ses publications un chapitre à la Petite Pervenche et précise son emploi comme tonique et astringent, notamment chez les tuberculeux que l'on veut soumettre à la médication tannique. Elle aurait l'avantage d'être bien tolérée par les voies digestives, vis-à-vis desquelles elle se comporterait comme un stimulant non irritant et, en outre, ce serait un apéritif amer.

Ainsi se présentait la question quand M. le professeur Em. PERROT, qui a toujours contribué à l'élargissement de nos connaissances en Matière médicale, et dont l'activité ne connaît pas de limites, a bien voulu nous confier le présent travail pour tenter de projeter un peu de lumière sur une modeste petite plante qui n'avait pas eu jusqu'alors le don d'attirer l'attention des phytochimistes d'une façon plus spéciale.

2. — DESCRIPTION BOTANIQUE DE LA PLANTE

La Petite Pervenche, *Vinca minor* L., est une plante gracieuse, vivace, sarmenteuse mais non grimpante, assez commune dans les haies, les endroits broussailleux, frais et ombragés, aussi bien en plaine que sur les côteaux, de préférence en terrain argilo-calcaire. Elle est répandue en France, Suisse, Allemagne du Sud, Angleterre, en Europe centrale et méridionale, jusqu'au Caucase et à l'Asie Mineure. On la rencontre jusqu'au 57° degré de latitude, — elle est donc l'Apocynée qui remonte le plus au Nord, — mais elle ne semble pas spontanée en Belgique, en Hollande, en Allemagne du Nord ni en Scandinavie.

La racine est traçante, portant aux nœuds de petites touffes de radicelles et émettant des stolons qui peuvent atteindre la longueur de 1 m. La plante produit deux sortes de tiges, les unes couchées, en s'enracinant dès le début et ne donnant que des feuilles, les autres, ne portant ordinairement qu'une fleur, sont d'abord dressées, puis retombent en s'enracinant. La tige est cylindrique, ligneuse à la base. Les feuilles persistantes, courtement pétiolées, sont petites, opposées, elliptiques ou ovales, légèrement coriaces, à la nervure médiane très marquée et un peu roulées sur le bord.

1. Henri LECLERC. Les remèdes des champs et des bois. Paris, 1926.

A l'aisselle des feuilles naissent des fleurs solitaires, assez longuement pédonculées, dont le calice infundibuliforme, gamosépale, est beaucoup plus court que la corolle et porte des lobes aigus. La corolle est rotacée, gamopétale, avec cinq lobes mesurant environ 1 ctm. et tronqués, d'un bleu pur ou plus ou moins pâle; certaines variétés portent même des fleurs blanches, ou ocreuses, ou roses. Les cinq étamines composant l'androcée sont incluses, à filets velus, geniculés à la base et élargis au sommet. Le pistil à deux carpelles se termine par un style surmonté d'un stigmate arrondi et plat, glutineux; deux nectaires sont situés en alternance avec les carpelles.

Le fruit est un double follicule, pointu, de section arrondie, long de 15 à 22 mm. et renfermant 2 à 4 graines brunes, tuberculeuses, longues de 6 à 10 mm. et portant un profond sillon longitudinal.

La Petite Pervenche sort ses fleurs au printemps avec parfois une seconde floraison en automne.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE CHIMIQUE DE L'INTRAIT

CHAPITRE PREMIER

CHOIX DE LA MATIÈRE PREMIÈRE POUR L'ÉTUDE CHIMIQUE : PLANTE STABILISÉE ET INTRAIT

La Matière première nécessaire pour ces recherches semblait naturellement devoir être les feuilles séchées à l'air, telles qu'on les rencontre en droguerie, mais dès les premiers essais nous nous sommes heurté aux difficultés bien connues, qu'on éprouve particulièrement pour l'étude chimique des plantes à glycosides lorsqu'on est en présence d'un mélange inextricable de corps voisins provenant de l'action de diastases hydrolysantes et oxydantes pendant la dessiccation.

L'emploi de la plante fraîche comporte également des difficultés, dues à la présence de corps gênants, comme la chlorophylle, les mucilages, etc.

Sur les conseils de M. le professeur Em. PERROT, dont on connaît les belles études effectuées en collaboration avec son assistant devenu son collègue, le professeur Albert GORIS, nous nous sommes adressé à la plante stabilisée à l'autoclave, par le procédé qu'ils ont préconisé ⁽¹⁾, et grâce auquel on a fabriqué par application industrielle des produits extractifs, connus sous le nom d'« Intrait ».

1. E. PERROT et A. GORIS. La stérilisation des plantes médicinales et leur activité thérapeutique. *Bull. Acad. Médecine*, 1909, 62, p. 97.

La Maison BOULANGER-Dausse, qui accueille toujours si aimablement les travailleurs scientifiques, a bien voulu nous préparer une quantité assez considérable d'intrait de Petite Pervenche, que les ressources matérielles du Laboratoire ne permettaient pas de préparer, et c'est finalement cette matière première que nous avons utilisée pour mener à bien l'étude chimique (1).

Tout d'abord, il fallait connaître les caractères physiques et, si possible, la nature des corps chimiques contenus dans cette préparation, toujours semblable à elle-même et dans laquelle les corps constituants se trouvent dans l'état même dans lequel ils existent dans le végétal vivant, la stabilisation ayant pour but, en tuant rapidement les ferments de la plante verte, d'éviter pendant la dessiccation les changements moléculaires qu'entraîne leur action après le déséquilibre mortel.

PROPRIÉTÉS DE L'INTRAIT

Cet intrait, dont 170 gr. correspondent à 1 K° de plante fraîche, se présente sous forme d'une poudre grossière, brun clair, extrêmement hygroscopique et qui doit être conservée en présence de chaux vive. Abandonné à l'air, cet intrait attire rapidement l'humidité atmosphérique et devient pâteux, tout en fonçant fortement. Son odeur est aromatique, sa saveur amère et très astringente.

a) Solubilité.

Des essais ont été faits à l'aide de divers solvants, surtout dans le but de se rendre compte de la solubilité des divers corps que la matière première était susceptible de contenir et d'essayer par cette méthode une séparation de ces substances.

L'intrait est *soluble dans l'eau froide, rapidement et en toutes proportions.*

L'addition d'un faible pourcentage d'alcool ne provoque pas de trouble dans le soluté aqueux, mais en augmentant le titre

1. Nous remercions ici vivement la Maison BOULANGER-Dausse, qui nous a fourni les quantités importantes d'intrait nécessaires à ce travail.

alcoolique de la solution, il se forme un précipité brun clair, floconneux.

L'alcool à haut degré, et bien qu'il se colore en jaune brun léger, n'est pas capable seul d'extraire de l'intrait un corps bien défini.

L'éther n'en enlève rien.

L'alcool amylique bouillant, bien que souvent employé avec succès pour des recherches phytochimiques, se colore en jaune, mais ne peut non plus être envisagé comme un solvant approprié.

Il en est de même avec l'acétone et l'alcool isopropylique, alors que l'alcool méthylique au contraire dissout bien la plus grande partie de l'intrait. Mais l'expérience et l'analyse nous ont démontré l'inaptitude de l'alcool méthylique à représenter un solvant spécifique; il dissout, comme l'eau distillée, presque tous les constituants de l'intrait, mais la proportion de dissolvant doit être beaucoup plus élevée.

Des essais de précipitation de la solution méthylique par l'éther, ou le benzène, ne nous ont pas non plus donné satisfaction. Le résidu granuleux, insoluble dans l'alcool méthylique, accusait, après dessiccation, une teneur en matière minérale de 18 %. Il était constitué principalement par du carbonate et de l'oxalate de calcium.

Ni le benzène, ni l'éther acétique, ni l'éther de pétrole n'ont pu nous donner, comme solvant, meilleur résultat que l'éther.

Il est permis de supposer, comme l'ont dit MM. PERROT et GORIS, que les composants chimiques de l'intrait forment en quelque sorte un ensemble non divisible par les simples solvants.

b) Cendres.

Une partie d'intrait, placée dans un creuset et chauffée doucement, commence par se boursoufler et tend à sortir du creuset, constatation qu'on fait habituellement lorsqu'on incinère des matières sucrées. En continuant à chauffer, l'intrait s'agglomère de nouveau et l'on constate une forte odeur aromatique et ammoniacale. Finalement, on blanchit les cendres en les chauffant à nouveau après addition de nitrate d'ammoniaque. On trouve, par pesée du résidu, que l'intrait contenait 12,5 % de *matières minérales fixes*, dont une rapide analyse nous a permis d'identifier les principaux éléments.

La majeure partie de ce résidu minéral est constituée par des sels de calcium, de potassium et de sodium, accompagnés d'un peu de magnésium. En outre, nous avons trouvé des traces de fer et de manganèse.

c) Dessiccation.

Nous avons voulu rechercher si l'intrait ne retenait pas une certaine quantité d'humidité. Quand on en met une partie dans une étuve, à la température constante de 60°, l'intrait commence par se gonfler, puis retombe sur lui-même, tout en fonçant fortement de couleur. On constate déjà par pesée une perte d'eau considérable et nous avons continué la dessiccation jusqu'à poids constant. Maintenu pendant vingt-sept jours à une température ne dépassant pas 60°, l'intrait avait perdu 6,5 % d'eau. Initialement brun clair, il était devenu brun foncé. Le produit ainsi obtenu n'est pratiquement plus hygroscopique, mais, contrairement à l'intrait, il n'est plus entièrement soluble dans l'eau. La partie insoluble dans l'eau peut être dissoute dans l'alcool chaud et présente certaines analogies avec le produit d'hydrolyse des tanins.

Nous remarquons qu'une dessiccation prolongée modifie l'état moléculaire des corps constituants, primitivement dissous dans le suc cellulaire. L'eau ainsi enlevée ne devait pas être simplement de l'eau d'hydratation, *mais évidemment jouer un rôle dans la constitution moléculaire de ce produit extractif complexe.*

d) Distillation sèche.

La distillation sèche de l'intrait, exécutée avec précaution, donne sur les parois du tube une masse noire, vers les bords de laquelle on peut observer quelques amas cristallins sublimés. Ceux-ci, repris par l'éther chaud permettent d'obtenir un corps qui, dissous dans l'eau, se colore en vert par le perchlorure de fer dilué. Peut-être s'agit-il de pyrocatéchine?

e) Fusion avec la potasse.

L'intrait chauffé avec une solution concentrée de lessive de potasse dégage une odeur aromatique et ammoniacale; on peut

constater la présence d'ammoniaque par le trouble produit dans une goutte de réactif de NESSLER. La formation de vapeurs d'ammoniaque peut avoir son origine dans des sels ammoniacaux, des amines végétales ou des matières albuminoïdes.

LA SOLUTION AQUEUSE DE L'INTRAIT.

Comme nous l'avons déjà remarqué, l'intrait se fonce fortement au contact de l'air, et il se forme au bout de quelque temps un léger dépôt.

La solution aqueuse est *acide* au tournesol.

Agitée, elle mousse considérablement, mais la mousse est peu persistante.

a) Recherche des saponines.

On sait que la formation d'une mousse peut être interprétée comme indication de la présence de saponines ou glycosides saponiques et comme nous avons trouvé, au cours des recherches bibliographiques, quelques allusions d'ailleurs assez vagues à la présence de ces corps dans la Petite Pervenche, nous avons voulu acquérir une certitude. Ajoutons ici que des recherches basées sur la méthode de KOFLER ⁽¹⁾ n'ont donné, ni sur la solution d'intrait, ni sur les solutions des diverses fractions de l'intrait, aucun résultat positif; il n'est pas, dès lors, inutile de donner ici un petit résumé de cette excellente méthode.

Si l'on trempe une bande de papier à filtrer dans une capsule contenant une solution aqueuse renfermant une saponine, la saponine se concentre, montant par capillarité dans la partie supérieure de la bande, où on peut l'identifier par la gélatine au sang.

Cette gélatine au sang se prépare en dissolvant 6 à 10 % de gélatine à une température de 40°, dans une solution de chlorure de sodium à 0,85 %; on ajoute un peu d'albumine d'œuf et on porte à l'ébullition pendant vingt minutes; puis on filtre sur de l'ouate, on neutralise par le carbonate de sodium et laisse refroidir à 35° en ajoutant finalement 5 % de sang de bœuf défibriné.

1. L. KOFLER, R. FISCHER, H. NEWSELY. Über den Nachweiss von Saponinen in Anzneimitteln, *Archiv der Pharmazie*, 1929, 267, p. 685-699.

La bande contenant la saponine est étendue sur une plaque de verre et on la recouvre de gélatine au sang, liquéfiée en la portant à 35°.

Puis on couvre avec une deuxième plaque de verre et laisse refroidir. Au bout d'un temps variant entre quelques minutes et quelques heures, selon la concentration de la saponine, il se forme un halo hémolytique qui se détache nettement, par sa transparence, sur le reste de la gélatine, où la coloration reste plus foncée.

Comme cette réaction est très sensible et que dans toutes les solutions employées le résultat est négatif, la conclusion s'impose que l'intrait de Petite Pervenche *ne possède pas de corps appartenant à la classe des saponines.*

b) Essais préliminaires.

PERCHLORURE DE FER. — Quelques gouttes d'une solution de perchlorure de fer à 1 %, ajoutées à une solution d'intrait diluée au 1/100^e, produisent une *coloration vert noirâtre*. Si l'on alcalinise avec précaution à l'aide d'une solution de carbonate de sodium à 2 %, la couleur vire au brun rouge, puis au brun chamois. Cette réaction est généralement attribuée à la *présence de corps phénoliques, tanins ou autres*. Nous exposerons les recherches effectuées sur ces corps dans le chapitre qui a trait aux tanoïdes.

RÉACTIF DE MAYER-VALSER. — Ce réactif, comme tous les réactifs des alcaloïdes, n'a pas donné de résultat positif. Mais comme un alcaloïde éventuellement présent peut être fixé à un corps tannique, cette réaction n'est pas concluante dans ces circonstances.

LIQUEURS ALCALINES. — L'addition d'un alcali (lessive de soude, par exemple) à la solution d'intrait a pour effet de foncer sa couleur. En très grande dilution, elle semble jaune verdâtre. De cette réaction, mais sous quelques réserves, on peut conclure à la présence de corps phénoliques.

ACIDES MINÉRAUX. — L'addition d'un acide minéral à la solution d'intrait ne provoque ni précipitation, ni changement de couleur

quand on opère à froid. En chauffant au bain-marie pendant quelque temps, la liqueur dégage l'odeur aromatique qu'on observe habituellement lors de l'hydrolyse des corps glycosidiques. Après un chauffage prolongé, il se forme un *précipité rouge noirâtre insoluble*. Nous exposerons plus loin les résultats de l'hydrolyse.

EAU DE BROME. — L'addition d'eau de brome provoque un trouble, insoluble dans un excès, indication généralement admise pour la présence de certains groupes phénoliques.

SOLUTION DE GÉLATINE. — Une solution de gélatine à 5 % dans une solution de chlorure de sodium à 0,9 %, ajoutée par petites quantités à la solution d'intrait, ne provoque ni précipité, ni trouble, et cela même après un contact prolongé. Cette réaction semble exclure la présence de corps du groupe des « tanins vrais. »

POUVOIR RÉDUCTEUR. — La solution d'intrait, alcalinisée, réduit la liqueur cupro-potassique à chaud, ce qui indique la présence d'un corps réducteur.

Par contre, le nitrate d'argent en solution ammoniacale n'est pas réduit par la solution d'intrait.

SELS DE MÉTAUX LOURDS. — L'addition d'une solution d'acétate de plomb, neutre ou basique, d'acétate de zinc, ou de sulfate de cuivre donne lieu à des précipités, dus vraisemblablement à la présence de corps phénoliques ou tanniques.

CHAPITRE II

LES HYDRATES DE CARBONE

Pour éviter des redites, nous exposerons dans ce chapitre les expériences effectuées pour la recherche des hydrates de carbone lors de l'hydrolyse de l'intrait, en nous contentant de citer, dans les chapitres relatifs aux tanoïdes, au glycoside et au résidu de l'intrait, les réactions utilisées.

a) Hydrolyse.

L'hydrolyse de l'intrait, en solution aqueuse, par l'acide sulfurique se montra assez difficile à effectuer au bain-marie, même à des concentrations allant jusqu'à 5 %. En effet, un chauffage prolongé pendant dix heures n'avait pas produit une hydrolyse complète et les titrages, par la liqueur cupro-potassique, des échantillons prélevés successivement, ont démontré qu'une partie des hydrates de carbone était difficile à dédoubler.

Pour arriver à une hydrolyse totale, nous avons eu recours au chauffage dans l'autoclave ;

50 gr. de matière première (Intrait DAUSSE) dissoute dans 200 cm³ d'eau et additionnée de 2 cm³ d'acide sulfurique pur, sont chauffés pendant trois heures et demie en autoclave à une température de 134°. Dans ces conditions, l'hydrolyse est complète.

On enlève par filtration l'aglycone insoluble brun foncé, et débarrasse le filtrat de l'acide sulfurique libre par digestion avec du carbonate de baryum au bain-marie, jusqu'à ce que le papier de congo démontre l'absence de toute trace d'acidité minérale. On filtre et lave le précipité de sulfate de baryum à l'eau chaude. Le filtrat, toujours fortement coloré, est déféqué par addition successive d'acétate neutre, puis d'acétate basique de plomb. On sépare les précipités plombiques par filtration et on les lave à l'eau chaude à plusieurs reprises. L'excès de plomb est ensuite éliminé en faisant passer un courant d'hydrogène sulfuré dans le filtrat. On filtre, lave le précipité et chasse l'excès d'hydrogène sulfuré par chauffage au bain-marie en agitant fréquemment. Par addition d'un peu de noir animal et de poudre de zinc, on arrive en même temps à décolorer sensiblement le liquide.

On obtient de la sorte 450 cm³ de solution d'hydrates de carbone, lévogyre (— 0°,3) ; contenant encore de l'acide acétique

et les matières minérales de l'intrait ; nous avons procédé comme suit pour obtenir une solution pure des glucides :

Le liquide, additionné de carbonate de baryum, est évaporé sous pression réduite en consistance de sirop ; ce résidu est traité d'abord par l'alcool à 90°, la solution alcoolique est filtrée, puis évaporée et le résidu résultant est épuisé de nouveau par de l'alcool à 95° bouillant. Après filtration, on évapore de nouveau jusqu'à consistance sirupeuse.

Le sirop d'hydrates de carbone ainsi obtenu pèse 4 gr., 2 ; il est légèrement coloré en jaune brun.

Il faut avouer que nous n'avons pas réussi à faire cristalliser les hydrates de carbone de cette solution concentrée, et qu'un essai de préparation en passant par la α -benzylphénylhydrazone, selon la méthode préconisée par RUFF ⁽¹⁾, n'a pas donné un meilleur résultat, parce que le caractère des sucres présents se prête mal à l'emploi de cette méthode ⁽²⁾.

C'est sur le sirop d'hydrates de carbone, en solution aqueuse, que nous avons effectué nos recherches.

b) Recherche des divers glucides.

RECHERCHE DES PENTOSE ET DES MÉTHYLPENTOSE.

RÉACTION DE BIAL. — On ajoute, à une solution aqueuse d'un sucre, assez de réactif de BIAL (1 gr. d'orcine dans 500 cm³ d'acide chlorhydrique à 25 % et 1,5 % d'une solution de perchlorure de fer à 10 %), pour que la solution contienne 18 % d'acide chlorhydrique et on chauffe doucement le tout pendant quelques minutes. On obtient une coloration bleue ou vert-bleu pour les pentoses et une faible coloration verte pour les méthylpentoses.

Avec cette réaction, on constate une faible coloration verte, passant assez vite au vert brun : présence de méthylpentoses et absence probable de pentoses.

RÉACTION A LA PHLOROGLUCINE. — On ajoute à une solution d'hydrates de carbone assez d'acide chlorhydrique pour l'amener à une concentration de 18 % ; on ajoute quelques milligrammes de phloroglucine et chauffe pendant quelques minutes au bain-marie bouillant. Dans le cas des pentoses, on obtient une coloration rouge violet, qui passe, par agitation, dans l'alcool amylique. La coloration rouge brun permet de conclure à l'absence probable des pentoses, à la présence d'un méthylpentose.

1. O. RUFF et G. OLLENDORFF. Verfahren zur Reindarstellung und Erkennung von Zuckern. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1899, 32, p. 3234.

2. A. W. VAN DER HAAR. Anleitung zum Nachweis, Trennung und Bestimmung von Monosacchariden. Berlin, 1920, p. 172.

RÉACTION A LA RÉSORCINE ⁽¹⁾. — On distille 30 cm³ d'une solution de glucides, contenant 12 % d'acide chlorhydrique, de façon à obtenir 5 cm³ de liquide distillé; on ajoute 5 cm³ d'acide chlorhydrique à 12 % au résidu et répète cette opération plusieurs fois. Les distillats, additionnés de leur volume d'acide chlorhydrique à 38 % et quelques milligrammes de résorcine, chauffés pendant quelques minutes au bain-marie, se colorent en vert ou en violet dans le cas des pentoses, en rouge clair dans le cas des méthylpentoses.

Nous avons obtenu une coloration rouge clair orangé: absence de pentoses, présence de méthylpentoses.

RÉACTION A L'ORCINE D'APRÈS NEUMANN ⁽²⁾. — On chauffe à l'ébullition 0,5 cm³ d'acide acétique cristallisable et V gouttes d'une solution alcoolique d'orcine à 5 %. X gouttes d'acide sulfurique produisent une coloration violette ou bleue pour les pentoses, jaune ou brune pour les méthylpentoses et les hexoses.

Cet essai nous a donné une coloration brun orangé, d'où absence des pentoses.

RÉACTION DE ROSENTHALER ⁽³⁾. — Si on chauffe une petite quantité d'un méthylpentose avec 10 cm³ d'acide chlorhydrique à 38 % et 1 à 2 cm³ d'acétone au bain-marie bouillant, on obtient une coloration rouge fraise. Dans le cas des pentoses, la coloration est faible et peu persistante.

Dans ces conditions, nous avons obtenu une coloration rouge fraise un peu violacée, persistante: présence d'un méthylpentose.

RÉACTION DE WIDTSOR ET TOLLENS ⁽⁴⁾. — On distille une solution de glucides de la même façon que pour la réaction à la résorcine. Les distillats, chauffés avec le même volume d'acide chlorhydrique à 38 % au bain-marie, se colorent en jaune orange dans le cas des méthylpentoses.

On a obtenu une coloration jaune orange: présence d'un méthylpentose.

RÉACTION D'OSHIMA ET TOLLENS ⁽⁵⁾. — C'est la même réaction que la précédente, mais rendue plus sensible par l'addition au distillat de quelques mil-

1. L. ROSENTHALER. Zum Nachweis von Methylpentosen und Pentosen. *Ann. d. Chemie*, 1909, 48, p. 169.

2. A. W. VAN DER HAAR. *Loc. cit.*, p. 44.

3. L. ROSENTHALER. *Loc. cit.*

4. J. A. WIDTSOR. Ueber den Tragantgummi und die Methylpentosen. *Ber. d. chem. Ges.*, 1900, 33, p. 146.

5. K. OSHIMA et B. TOLLENS. Ueber Spektralreaktionen des Methylfurfurols, *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1901, 34, p. 1425.

ligrammes de phloroglucine. Les pentoses donnent lieu à une coloration verte, les méthylpentoses à une coloration jaune orange.

Nous avons obtenu une coloration jaune orange : présence d'un méthylpentose.

RÉACTIONS DES CÉTOSES.

RÉACTION DE SELIVANOFF. — En chauffant quelques centigrammes d'une cétose avec 10 cm³ d'acide chlorhydrique N et quelques milligrammes de résorcine pendant quinze minutes au bain-marie, on obtient une coloration rouge.

Cet essai nous a donné une forte coloration rouge après un chauffage de trois minutes; présence d'une cétose.

RÉACTION DES ALDOSES.

RÉACTION DE BERG (*). — On chauffe une solution concentrée d'un aldose avec 10 cm³ d'eau de brome, chasse l'excès de brome, et ajoute à la solution du perchlorure de fer à 2 ‰ et deux gouttes d'acide chlorhydrique. Les aldoses donnent une coloration jaune.

Nous avons obtenu une légère coloration jaune, ce qu'on ne saurait pas considérer comme une preuve certaine de la présence d'un aldose.

RECHERCHE DU GLUCOSE PAR LA FORMATION D'ACIDE SACCHARIQUE.

On chauffe au bain-marie dans une capsule 2 gr. de glucose avec 10 cm³ d'acide nitrique de densité 1,2 jusqu'à ce qu'il s'établisse un dégagement de vapeurs rutilantes. On éloigne du feu, et quand la réaction s'est calmée, on évapore à consistance de sirop; on reprend par 3 cm³ d'eau, sature par du carbonate de potassium à chaud, verse dans un verre à pied, et ajoute 4 cm³ d'acide acétique. Par refroidissement, il se forme un dépôt cristallin blanc de saccharate acide de potassium.

Nous n'avons pas réussi à préparer le saccharate acide de potassium; cet insuccès n'est pourtant pas une preuve irréfutable de l'absence du glucose, étant donné la petite quantité de substance dont nous avons pu disposer pour cet essai.

1. A. BERG. Sur une réaction des sucres à fonction aldéhydique. *Bull. Soc. chim. de France*, 1904, (3), 31, p. 1216.

RECHERCHE DU GALACTOSE PAR FORMATION D'ACIDE MUCIQUE.

On opère exactement comme pour la réaction précédente; mais lorsque l'oxydation est terminée, on reprend par 3 cm³ d'eau et verse dans un verre. Il se produit assez rapidement un précipité blanc d'acide mucique, soluble dans l'ammoniaque.

Nous n'avons pas obtenu de cristaux d'acide mucique, d'où nous avons conclu à l'absence du galactose.

FORMATION D'OSAZONES.

3 cm³ de la solution aqueuse de nos glucides sont chauffés avec 3 cm³ d'une solution d'acétate de phénylhydrazine ⁽¹⁾, pendant une demi-heure au bain-marie. Il se forme déjà au cours du chauffage une certaine quantité d'osazone, le reste ne se séparant que par complet refroidissement. A ce moment, on lave les osazones à l'eau.

Au microscope, elles se présentent sous deux formes cristallines :

Celle de longues aiguilles réunies, soit en pinceaux, soit en branches de genêt;

Et celle de petites aiguilles groupées en oursins.

Pour séparer les deux formes, on lave les osazones par l'acétone; une partie se dissout, et il reste une osazone insoluble dans ce solvant, composée uniquement de longues aiguilles. Séchée à l'étuve, elle fond à 210° dans l'appareil de THIELE et à 230° au bloc MAQUENNE.

Il s'agit de l'osazone qu'on obtient à partir du *fructose*, du *glucose* et du *mannose*.

L'acétone, contenant l'autre osazone en solution, est concentrée sur le bain-marie, puis additionnée de deux fois son volume d'eau chaude. L'osazone se sépare par refroidissement.

L'osazone apparaît sous le microscope en forme de petites aiguilles courtes, réunies en forme d'oursins; elle fond à 165° (appareil de THIELE). Par recristallisation répétée dans le benzène,

1. Formule de DENIGÉS :

Acétate de sodium	10 gr.
Acide acétique cristallisable	20 cm ³
Phénylhydrazine	5 gr.
Eau distillée, Q. S.	100 cm ³

nous avons obtenu une osazone pure colorée en jaune d'or, formée de petites aiguilles, réunies en étoiles, dont le point de fusion est de 182° dans l'appareil de THIELE.

Il s'agit là de la rhamnosazone ⁽¹⁾.

Comme le mannose est facilement identifiable par la formation de son hydrazone à froid, réaction qui ne s'est pas produite dans notre cas, l'intrait de la Petite Pervenche contient donc, libres ou combinés, *un méthylpentose, qui est le rhamnose, et un ou deux hexoses, dont une cétose, du fructose et éventuellement du glucose.*

c) Dosage des monosaccharides.

On dissout 2,1 gr. du sirop des glucides dans 200 cm³ d'eau, et décolore la solution par digestion avec un peu de noir animal au bain-marie.

Déviation polarimétrique (20 cm.) $\alpha = -0^{\circ},6$.

DOSAGE DU SUCRE CALCULÉ EN GLUCOSE. — Le titrage a été effectué selon la méthode indiquée par G. BERTRAND ⁽²⁾, basée sur la décoloration de la liqueur cupro-potassique par la solution des sucres, la liqueur cupro-potassique étant préalablement titrée à l'aide d'une solution de glucose pur.

La solution des monosaccharides contenait 0,863 % de sucre, exprimé en glucose, ce qui correspond à 6,9 % de monosaccharides totaux dans l'intrait, soit libres, soit à l'état de combinaison, et calculés comme glucose.

Le pouvoir rotatoire spécifique $\alpha_{[D]}$ serait alors :

$$\alpha_{[D]} = \alpha \times \frac{100}{p \times l} = \frac{0,6 \times 100}{0,863 \times 2} = -34^{\circ},8 \text{ calculé en dextrose.}$$

DOSAGE DU RHAMNOSE. — 30 cm³ de la solution sont maintenus pendant deux heures à une température de 35°, en présence de levure. Dans ces conditions, les hexoses présents sont entièrement fermentés, et on obtient alors par chauffage avec une solution d'acétate de phénylhydrazine une seule osazone : la rhamnosazone.

1. E. FISCHER et J. TAFEL. Oxydation der mehrwertigen Alkohole. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1887, 20, p. 1088.

2. G. BERTRAND et P. THOMAS. Guide de Chimie Biologique, Paris, 1910, p. 80. *

A ce moment, le dosage de la solution accuse 0,373 % de rhamnose calculé en glucose, ce qui correspond, en se basant sur le facteur de réduction moyenne, $f=0,981$ à :

0,380 % de rhamnose,

soit 3 % de rhamnose, libre ou combiné, dans l'intrant initial.

DOSAGE DU FRUCTOSE ET DU GLUCOSE. — Si on admet que le fructose soit l'unique hexose présent et qu'on veuille calculer les pourcentages de rhamnose et de fructose selon les formules de BROWNE (1), on arrive à un chiffre de 0,499 % de rhamnose pour la solution employée, ce qui serait un écart trop grand par rapport au chiffre résultant du titrage après fermentation.

On doit donc admettre la présence d'une certaine quantité de glucose, et cela malgré l'insuccès de la recherche de l'acide saccharique.

Si on applique dans ces conditions les formules de BROWNE aux deux hexoses, on aboutit aux résultats suivants :

La solution contient (0,863-0,373 %), soit 0,490 % d'hexoses, exprimés en glucose.

Déduisons également la rotation due au rhamnose :

$$\alpha = \frac{\alpha_{[D]} \times p \times l}{100} = \frac{+8,5 \times 0,373 \times 2}{100} = +0,063$$

de la rotation totale de la solution, on obtient :

$$\alpha = -0,6 + 0,063 = -0,537$$

et ainsi pour le mélange de fructose et de glucose, calculé en glucose :

$$\alpha_{[D]} = \alpha \times \frac{100}{p \times l} = 0,537 \times \frac{100}{0,490 \times 2} = -54,7.$$

BROWNE a donné les formules suivantes :

$$x = \frac{(b \times \alpha_{[D]} \text{ mélange} - \alpha_{[D]} B) - \% \text{ hexoses, calculé en glucose}}{(b \times \alpha_{[D]} A) - (a \times \alpha_{[D]} B)}$$

$$y = \frac{\% \text{ hexoses, calculé en glucose} - (a \times x)}{b}$$

• 1. VAN DER HAAR, *loc. cit.*, p. 134.

Dans ce cas nous avons :

a = facteur de réduction moyenne de fructose sur glucose = 0,972;

b = facteur de réduction moyenne du glucose = 1.

$$\alpha_{[D]}A = -93^{\circ}$$

$$\alpha_{[D]}B = +47^{\circ},9$$

$$x = \% \text{ fructose} = \frac{[1 \times (-54,7 - 47,9)] \times 0,490}{(1 \times 93,0) - (0,972 \times 47,9)} = 0,360$$

$$y = \% \text{ glucose} = \frac{0,490 - (0,972 \times 0,360)}{1} = 0,140.$$

Ces chiffres correspondant à la solution des sucres, on obtient pour l'intrait initial les chiffres suivants :

$$\begin{array}{r} 2,88 \% \text{ de fructose} \\ 1,12 \% \text{ de glucose} \\ \hline \text{au total } 4,00 \% \text{ d'hexoses} \\ \text{et } 3,04 \% \text{ de rhamnose} \\ \text{soit } 7,04 \% \text{ d'hydrates de carbone dans l'intrait,} \end{array}$$

ce qui veut dire, 100 gr. d'intrait représentant 588 gr. de plante fraîche, que 1 K° de plante verte de *Vinca minor* contient :

Hydrates de carbone 11 gr. 8

se répartissant en :

Hexoses 7 gr. 2
Rhamnose : 4 gr. 6

Nous savons fort bien que ces chiffres ne sont pas, et ne peuvent pas être, d'une exactitude rigoureuse, en raison même des méthodes employées, mais ils peuvent pourtant donner une idée assez juste de la répartition et de la quantité des sucres contenus dans l'intrait et par conséquent dans la plante fraîche.

CHAPITRE III

LES TANOÏDES

Les réactions effectuées avec la solution aqueuse d'intrait nous avaient conduit à admettre la présence de corps généralement désignés sous le nom de « tanins », ou, vu l'absence de la précipitation par la solution de gélatine, d'un corps chimiquement voisin de ceux-ci.

a) Préparation.

La méthode générale de préparation des tanins consiste, soit à les isoler par précipitation au moyen de solvants alternés, soit à les combiner à un métal lourd, avec lequel ils peuvent former des précipités peu ou pas solubles. Ainsi qu'il a été dit plus haut, la première méthode ne pouvant pas donner un résultat positif, nous avons eu recours à la seconde.

Cette précipitation se fait de préférence en solution aqueuse, en ajoutant la solution d'un sel très soluble d'un métal lourd, d'acétate par exemple, à la solution contenant les tanins; mais une digestion avec certains oxydes, avec l'oxyde de zinc ou la litharge notamment, peut également être utilisée avec succès.

Nous avons essayé ces divers procédés. La précipitation des tanins dans la solution d'intrait, par une solution d'acétate de cuivre ou de zinc, est à la fois difficile et incomplète. Une digestion prolongée avec la litharge ou l'oxyde de zinc, opération qui doit toujours être exécutée à chaud, a pour effet de fixer aux métaux lourds non seulement les tanins, mais encore d'autres corps. En même temps, il se produit une décomposition de certains constituants.

C'est la méthode suivante qui nous a donné le meilleur résultat.

A une solution aqueuse d'intrait à 20 %, on ajoute, par petites portions et en agitant bien, son volume d'une solution d'acétate neutre de plomb, également à 20 %. L'excès d'acétate de plomb est nécessaire pour précipiter la totalité des tanins. On laisse déposer le précipité, de couleur brun grisâtre, pendant une nuit. On décante et filtre. Comme le lavage du

précipité sur le filtre même est très difficile et nécessite un temps assez long, pendant lequel le sel plombique, exposé à l'air, peut s'altérer, il est nécessaire de le mettre en suspension dans de l'eau distillée et renouveler l'eau de lavage après décantation.

Quand l'eau de lavage n'est plus que faiblement colorée, on disperse le précipité dans l'eau distillée, à laquelle on ajoute un peu d'alcool, pour faciliter la précipitation ultérieure du sulfure de plomb. Dans cette dispersion, on fait passer un courant modéré d'hydrogène sulfuré tout en agitant continuellement le vase; de cette manière, le précipité de sulfure de plomb qui se forme, dépose plus facilement. Quand la réaction semble terminée, on filtre.

Comme le précipité de sulfure absorbe toujours une quantité considérable de corps étrangers, il est indispensable de le laver à plusieurs reprises à l'eau chaude, jusqu'à ce que l'eau de lavage s'écoule incolore. En général, la solution ainsi obtenue contient encore du plomb sous forme d'un complexe d'acétate et tannate de plomb, soluble dans l'eau. Pour éliminer complètement le plomb, on concentre le liquide au bain-marie et on le soumet de nouveau à l'action de l'hydrogène sulfuré en excès. Dans ces conditions, le reste du plomb précipite. On filtre et lave le précipité à l'eau chaude. Le filtrat se présente sous forme d'un liquide brun jaune qui peut être sensiblement décoloré par digestion au bain-marie avec un peu d'un mélange de poudre de zinc et de noir animal.

Pour préparer le tanin, on évapore cette solution sur le bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse et on enlève l'eau autant que possible par azéotropisme, méthode qui consiste à ajouter quelques gouttes de benzène qui entraîne, en s'évaporant, le reste de l'eau. La masse pâteuse devient dure et on peut la pulvériser dans un mortier, ce qui donne alors une *poudre jaune grisâtre fortement hygroscopique*. Pour la maintenir à l'état pulvérulent, il faut la conserver, soit dans un tube bien bouché, soit dans l'exsiccateur. Ainsi préparée, elle représente 18,5 % de l'intrait.

b) Propriétés des tanoïdes.

PROPRIÉTÉS TANNANTES. — Les notions sur les matières végétales, habituellement désignées sous le nom de « tanins » ou « acides tanniques », même à l'heure actuelle, ne sont pas encore très précises. La chimie de ces corps est un champ encore en friche et la longue série des travaux publiés sur les tanins sont surtout d'ordre pratique et ont trait à la possibilité de leur emploi dans la technique industrielle.

Si FISCHER ⁽¹⁾, FREUDENBERG ⁽²⁾, NIERENSTEIN ⁽³⁾, et leurs élèves

1. E. FISCHER. Ueber die Carbomethoxyderivate der Phenolcarbonsäuren und ihre Verwendung für Synthesen. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1908, **41**, p. 2875; 1909, **42**, p. 215 et 1045.

2. E. FISCHER et K. FREUDENBERG, *id.*, *Liebigs Annalen*, 1909, **372**, p. 32; 1911, **384**, p. 225.

3. M. NIERENSTEIN. *Chemie der Gerbstoffe*. Sammlung chem. und chem.-techn. Vorträge, 1910, p. 219.

ont commencé à construire par synthèse les noyaux élémentaires de ces corps à grosse molécule, l'application de leurs résultats aux tanins végétaux, à part quelques corps bien définis, tels les tanins de la noix de galle, est encore quelque peu incertaine, et peut donner lieu à des hypothèses assez diverses.

D'abord, qu'est-ce qu'un tanin? L'expression « tanin » est surtout technique et on a donné ce nom à des corps qui, fixés sur la peau animale, la rendent plus résistante à la putréfaction. Le médecin et le pharmacien, par contre, pour l'identification des tanins, s'attachent surtout à leur activité physiologique. Tous les tanins industriels sont utilisables en thérapeutique, mais il est des corps chimiquement voisins de ceux-ci, qui possèdent également certaines propriétés des tanins. Voici ce que dit WASICKI ⁽¹⁾ à ce sujet. « Au point de vue de la physiologie végétale, on éprouve des difficultés à considérer les tanins comme un groupe biochimique simple, parce que, d'une part, la différenciation avec d'autres substances végétales n'est guère possible et d'autre part les tanins eux-mêmes semblent se différencier en groupes biochimiques différents. »

De son côté, DEKKER ⁽²⁾ a défini ainsi les tanins : « Phénols polyvalents, aptes à tanner le cuir, d'un goût astringent, précipitables par une solution de gélatine ou d'albumine à 0,5 %/o. »

Pour nous assurer si, malgré l'absence de la précipitation par la gélatine, nous avons affaire à un corps tannant ou non, nous avons utilisé la méthode employée dans l'industrie pour apprécier et doser les qualités tannantes d'un corps. Cette méthode consiste à déterminer la quantité de matière absorbée par une poudre de peau spécialement préparée à cet effet et dont les teneurs en acidité, en cendres et en humidité, répondent aux exigences de l'*Association Internationale des Chimistes de l'Industrie du Cuir* (A. I. C. I. C.).

Ayant préparé une solution à 5 % du corps obtenu, 50 cm³ de cette solution ont été évaporés au bain-marie, dans une capsule tarée; le résidu, séché pendant douze heures dans une étuve à la température constante de 100°, a été pesé à poids constant (témoin).

1. R. WASICKY. Lehrbuch der Physiopharmakognosie, Wien, I, 1928, p. 284.

2. J. DEKKER. Die Gerbstoffe, Berlin, 1913, p. 387.

D'autre part, 125 cm³ de cette même solution sont laissés en contact avec une quantité suffisante de poudre de peau pendant quarante-cinq minutes, en agitant constamment; on jette sur un tampon de coton et ayant rejeté les premiers 30 cm³, on prélève 50 cm³ qui sont évaporés et séchés dans une capsule tarée en même temps que les 50 cm³ de la solution témoin.

La différence entre les poids de ces deux résidus représente le poids de la matière absorbée par la poudre de peau, c'est-à-dire de la matière tannante.

Dans le cas présent, les deux résidus avaient des poids identiques.

Les tanins de l'intrait de *Vinca minor* ne possèdent donc pas de propriétés tannantes au sens propre du mot.

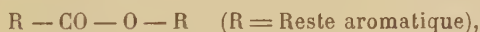
Pour être encore plus certain, nous avons appliqué cette même méthode à la solution d'intrait; le résultat fut le même.

Il résulte de cela que l'intrait de Petite Pervenche *ne contient aucune matière apte à tanner le cuir*.

Ainsi, il n'est pas surprenant de voir que la solution de gélatine, ajoutée à la solution aqueuse d'intrait, ne donne ni précipité, ni trouble, les deux réactions dérivant du même phénomène.

Quel est ce phénomène et que se passe-t-il? Est-ce bien une réaction chimique, ou est-elle la conséquence unique de propriétés physiques?

ABDERHALDEN ⁽¹⁾ et d'autres auteurs admettent la présence d'un groupement tannophore, qui serait constitué ainsi :



mais il nous paraît assez difficile d'expliquer de la sorte le mécanisme du tannage.

PROCTER ⁽²⁾ et WILSON pensent que la précipitation de la gélatine par le tanin est due à une charge électrique différente.

H. BUNGENBERG DE JONG ⁽³⁾ affirme, par contre, que l'acide tannique sur lequel il a porté ses essais ne possède pas de charge électrique et il explique l'effet du tannage végétal par la

1. EM. ABDERHALDEN. Biochemisches Handlexikon. Berlin, 1910, 7, p. 793.

2. H. R. PROCTER et J. A. WILSON. The Acid-Gelatin Equilibrium. *J. Chem. Soc.*, 1916, 409, p. 327.

3. H. BUNGENBERG DE JONG. Contributions to the Theory of Vegetable Tanning. *Rec. des Travaux chimiques des Pays-Bas*, 1923, 42, p. 437.

déshydratation des éléments-gels présents dans les parois du tissu cellulaire, résultant de l'absorption du tanin.

Une discussion plus approfondie est hors de notre compétence, mais il semble que toute cette question de composition des tanins se présente sous un aspect nouveau si l'on en fait l'étude en partant de la plante fraîche ou stabilisée, ou d'un produit extractif dérivant de cette dernière forme qui permet au chimiste d'avoir à sa disposition, à tout moment, un matériel d'études stable et de conservation pratiquement indéfinie. On se trouve alors en présence de corps complexes tels qu'ils existent dans la plante vivante, en équilibre moléculaire.

Et, comme on admet que tous les tanins végétaux, dans leur ensemble, sont de nature glycosidique, ils sont, par ce fait, soumis à l'activité des ferments au cours de la dessiccation de la plante; ce qui explique les divergences dans les résultats des recherches effectuées sur la composition chimique de la plante. Il est probable qu'un jour viendra où l'on découvrira, en partant de ces « complexes initiaux », la clef qui permettra de pénétrer dans la structure intime et les propriétés physiques de ces édifices chimiques en équilibre dans le végétal vivant.

Nous retenons seulement que le matériel stabilisé de *Vinca minor* ne contient pas de matière tannante au sens propre du mot, mais une ou plusieurs combinaisons que nous désignerons dans la suite sous le nom de *tanoïdes*, en nous basant sur les suggestions déjà émises en 1909 par MM. PERROT et GORIS ⁽¹⁾.

c) Caractérisation des tanoïdes.

Les classifications que les différents auteurs ont donné des tanins sont sensiblement différentes; une telle classification est en effet assez difficile à réaliser pour les raisons données plus haut. Il est également difficile de définir des groupes au point de vue chimique, parce qu'il est des cas où des corps d'un caractère semblable possèdent des réactions différentes, alors qu'une même réaction peut au contraire s'appliquer à des corps chimiquement différents. Au surplus, les bois, les écorces, les fruits, les feuilles d'une même plante peuvent fournir des tanins

1. EM. PERROT et A. GORIS. Essai d'une terminologie des corps désignés généralement sous le nom de « tanins ». *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1909, 16, p. 189-191.

qui ne sont pas identiques et qui peuvent varier suivant la saison. Déjà BRAEMER ⁽¹⁾ a très judicieusement exprimé ce fait en disant : « Il ne peut être question que des variations et des transformations subies dans le cours de la végétation de la plante, dont le tanin soit chimiquement défini et des rapports de celui-ci avec les autres principes immédiats de cette plante. Toute généralisation est, non seulement prématurée, mais *a priori* erronée. »

De toutes les classifications, celle de PROCTER ⁽²⁾ semble la plus adéquate aux tanoïdes. Adoptée par d'autres auteurs, notamment par GRASSER ⁽³⁾, elle distingue :

A. *Les tanins pyrocatechiques* ;

B. *Les tanins mixtes* ;

C. *Les tanins pyrogalliques*.

Ces désignations sont basées sur le produit obtenu en chauffant 1 gr. de substance avec 3 cm³ de glycérine pendant vingt minutes à 200° et épuisant par l'éther après dilution dans l'eau. Elles sont donc essentiellement fondées sur la constitution du noyau phénolique du tanin.

Cette classification, quoique rudimentaire, est certainement mieux appropriée aux *tanoïdes* que celle de FREUDENBERG ⁽⁴⁾, qui distingue des tanins hydrolysables et des tanins condensés, en tenant compte que les tanins condensés sont vraisemblablement des produits secondaires non préexistants dans la plante vivante.

GRASSER a complété la classification de PROCTER en subdivisant en deux chacun des groupes, mais une classification ainsi établie ne peut servir, comme en témoignent les exemples, qu'à renseigner rapidement l'industriel tanneur.

Il existe un grand nombre de réactions chimiques appliquées aux tanins, mais comme elles ont été établies surtout en vue de buts industriels particuliers, elles présentent un caractère bien spécial et ne peuvent s'appliquer qu'à un nombre très restreint de ces corps. Outre cela, le mécanisme de la réaction elle-même

1. L. BRAEMER. Les Tanoïdes, *Thèse Lyon*, 1890, p. 175.

2. PROCTER. The leather Industry. Laboratory book. London, 1919, p. 157.

3. H. GRASSER. Handbuch für gewerbereichem. Laboratorien. Wien, 1929, p. 175.

4. K. FREUDENBERG. Nachweis, Isolierung, Aufbau- und Abbaustudien auf dem Gebiet der Gerbstoffe, dans : ABDERHALDEN. Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, Berlin et Wien, 1921, Abt. I, Teil 10, p. 439.

est souvent obscur et ne comporte pas d'explication scientifique satisfaisante. Nous citerons toutefois les quelques réactions qui nous ont aidé à identifier les tanoïdes de la Petite Pervenche.

CHAUFFAGE DANS LA GLYCÉRINE. — 2 gr. de tanoïde délayés dans 6 cm³ de glycérine sont chauffés dans un tube Pyrex pendant vingt minutes, à une température de 200°. Il se dégage une odeur empyreumatique et la liqueur devient noirâtre. On laisse refroidir, on ajoute 6 cm³ d'eau, on introduit dans un entonnoir à décantation et on épuise à plusieurs reprises par l'éther.

La solution éthérée, légèrement colorée en jaune brun, laisse après évaporation un résidu brunâtre dans lequel on observe, sous le microscope, quelques amas cristallins. On épuise le résidu au moyen de benzène bouillant et on fait évaporer la solution. De cette manière, on obtient des cristaux tabulaires, presque incolores. Ils fondent à 104° au tube de THIELE et se subliment en plaques cristallines. Leur solution aqueuse se colore en vert par le perchlorure de fer dilué ; elle réduit la liqueur cupro-potassique à chaud et donne, avec l'acétate neutre de plomb, un précipité soluble dans l'acide acétique. Tout ceci implique la présence de la pyrocatechine.

RÉACTION DE BRISSEMORET. — M. BRISSEMORET ⁽¹⁾ a publié une réaction qui permet l'identification de certains tanoïdes ⁽¹⁾. C'est en somme la réaction de KILIANI qu'il a améliorée.

Quelques milligrammes de tanoïdes sont dissous dans un tube à essai dans le minimum d'alcool à 60 %. On ajoute 3 cm³ d'acide acétique cristallisable, renfermant, pour 100 cm³, 1 cm³ d'une solution de perchlorure de fer à 5 %. On mélange et ajoute, en faisant couler le long de la paroi du tube pour éviter tout mélange, 3 cm³ d'acide sulfurique pur, renfermant, pour 10 cm³, 1 cm³ d'une solution de perchlorure de fer à 5 %. On obtient, au contact de ces deux liquides, une coloration caractéristique.

Nous avons obtenu une coloration rouge violacé, ce qui indique, d'après BRISSEMORET, la présence de tanoïdes caféïques, nom sous lequel il désigne la plupart des tanins pyrocatechiques de PROCTER.

1. A. BRISSEMORET. Sur une réaction colorée des tanoïdes. *Bull. Soc. chim. de France*, 1907, (4^e s.), 4, p. 474, et *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1907, 14, p. 504.

PERCHLORURE DE FER. — Quelques gouttes d'une solution de perchlorure de fer à 1 % provoquent, dans une solution aqueuse de tanoïdes à 1 %, une coloration vert bouteille. Cette réaction est propre aux dérivés de la pyrocatechine (¹). Pour la réussite de cette réaction, l'absence de toute trace d'acide acétique, d'acide minéral ou d'alcali est absolument indispensable.

EAU DE BROME. — Quelques gouttes d'une solution saturée de brome, ajoutées à la solution des tanoïdes, provoquent un trouble, puis un précipité insoluble dans un excès de réactif. Cette réaction, que ne présente pas le groupe pyrogallique, exclut par conséquent celui-ci.

PRÉCIPITATION PAR LA GÉLATINE. — Ainsi que nous avons déjà dit, nos tanoïdes en solution ne précipitent pas la solution de gélatine, même à de fortes concentrations.

PRÉCIPITATION PAR UN ALCALOÏDE. — Ni le sulfate de quinine, ni le sulfate de strychnine, ni l'antipyrine ne sont précipitables par la solution des tanoïdes de *Vinca minor*.

On a considéré pendant longtemps que la précipitation des alcaloïdes était une propriété des « tanins vrais ». Mais on s'est aperçu que la formation d'un complexe insoluble a lieu avec bon nombre d'autres corps, comme l'acide picrique par exemple, et n'est guère caractéristique pour ce groupe.

On peut se demander, en effet, comment les tanoïdes de la plante vivante pouvaient bien voisiner avec les alcaloïdes, s'ils formaient avec eux des complexes insolubles.

d) Hydrolyse des tanoïdes.

10 grammes de matière, dissous dans 50 cm³ d'eau et additionnés de 1 cm³ d'acide sulfurique pur, sont chauffés pendant trois heures en autoclave à une température de 134°. Il se forme un précipité brun foncé, insoluble dans l'eau, qu'on sépare par filtration.

PHLOBAPHÈNES. — Ce précipité est entièrement soluble dans

¹ H. MEYER. Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen. Berlin, 1903, p. 300.

l'alcool fort et la solution obtenue est fortement colorée en brun rougeâtre ; elle est légèrement acide au tournesol. Un essai de décoloration par le noir animal n'a pas donné de résultat.

Le précipité est également bien soluble dans l'eau alcalinisée par la lessive de potasse ou l'ammoniaque, et peut être reprécipité de cette solution par l'addition d'un acide minéral en excès. Il est insoluble dans l'éther, qui le reprécipite de sa solution alcoolique.

Il n'est pas hygroscopique.

A l'incinération, il ne laisse pas de cendres.

On est ici en présence d'un produit de dédoublement et de déshydratation qui a subi en même temps une condensation. Deux faits en témoignent : l'acidité faible et la légère coloration par le perchlorure de fer par rapport aux tanoïdes, ce qui indique que le nombre de groupes phénoliques a diminué en même temps que celui des groupes carboxyliques par formation de combinaisons oxycétoniques et d'éthers-sels.

Le précipité apparaît donc comme un corps phlobaphénique, analogue à ceux qui existent dans bon nombre de plantes desséchées, où on les considère comme des matières dérivées des tanins (1).

La quantité de phlobaphène ainsi obtenue représente 10 % environ des tanoïdes initiaux.

Dans le but d'obtenir quelques renseignements sur le caractère chimique de ce corps, nous avons recouru à l'hydratation par la potasse.

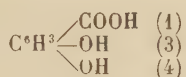
1 partie du corps est chauffée pendant vingt minutes à 100° avec 5 parties de lessive de potasse à 30 %. On dilue avec de l'eau, acidifiée par l'acide sulfurique, puis on épuise par l'éther.

La solution éthérée laisse, après évaporation, un résidu cristallisé, coloré en brun clair. On lave, par un peu de benzène chaud, les cristaux obtenus, on reprend par l'alcool et évapore de nouveau. Les cristaux apparaissent au microscope, sous forme d'aiguilles groupées en houppes. Leur solution est acide au tournesol ; une goutte d'une solution de perchlorure de fer la colore en vert pur. Une addition d'acétate de plomb neutre produit un précipité soluble dans l'acide acétique faible. La solution aqueuse réduit le nitrate d'argent en solution ammoniacale.

1. K. FREUDENBERG. *Loc. cit.*, p. 441.

Le point de fusion des cristaux est de 193°.

Toutes ces réactions sont celles de l'acide 3-4-dioxy-benzène-carbonique ou acide protocatéchique.



Nous pouvons en conclure que le corps phlobaphénique obtenu par hydrolyse des tanoïdes de *Vinca minor* contient, comme noyau, l'acide protocatéchique et les produits de son éthérification.

ACIDE PROTOCATÉCHIQUE. — La liqueur provenant de l'hydrolyse et débarrassée des phlobaphènes par filtration est privée de l'acide sulfurique par digestion avec du carbonate de baryum au bain-marie. Quand le papier congo démontre l'absence d'acide minéral, on filtre et concentre la solution. Elle est très acide au tournesol et se colore encore en vert par le perchlorure de fer : ou bien l'hydrolyse était incomplète, ou bien la solution contenait un acide phénolique libre. La première hypothèse était peu vraisemblable, vu les conditions dans lesquelles l'hydrolyse avait été effectuée. En effet, nous avons réussi à extraire par l'éther, de la liqueur concentrée, une quantité appréciable d'acide protocatéchique, que nous avons identifié comme plus haut.

Les tanoïdes de *Vinca minor* renferment donc de l'acide protocatéchique, en combinaison, comme nous le verrons, avec un hydrate de carbone.

HYDRATES DE CARBONE. — Pour la recherche des hydrates de carbone entrant dans la composition des tanoïdes, nous avons employé la liqueur provenant de l'hydrolyse des tanoïdes et épuisée ensuite par l'éther pour enlever l'acide protocatéchique.

Cette liqueur, toujours fortement colorée en brun, est évaporée à sec sur le bain-marie, en présence d'un excès de carbonate de baryum. La masse brune restante est épuisée par l'alcool à 90° bouillant. Après une digestion sur le bain-marie avec du noir animal, on évapore la solution alcoolique et reprend le résidu sirupeux par l'alcool à 95° bouillant. Une nouvelle digestion avec du noir animal décolore presque entièrement la solution alcoolique ; on l'évapore et reprend le sirop restant, légèrement coloré en brun, par 200 cm³ d'eau.

Les mêmes réactions, déjà décrites pour la recherche des hydrates de carbone de la totalité de l'intrait, nous ont permis d'identifier dans les produits d'hydrolyse des tanoïdes :

Un méthylpentose,

Des hexoses, dont une cétose.

La formation d'osazones a prouvé la présence de rhamnose, d'une part, et du glucose, ou de fructose, d'autre part, ou de ces deux derniers glucides en même temps.

DOSAGE DES SUCRES. — La solution des sucres est lévogyre :

$$\alpha = -1^{\circ},1.$$

Le titrage par la liqueur cupropotassique annonçait une teneur en glucides de :

Calculé en glucose. 0,912 %.

Le titrage après fermentation a démontré la présence de 0,212 % de rhamnose, calculé en glucose, soit 0,216 % de rhamnose.

Si l'on calcule les pourcentages du fructose et du glucose également présents, d'après les formules de BROWNE, nous arrivons au résultat suivant :

Fructose	0,625 %
Glucose.	0,101 %

ce qui donne, en chiffres relatifs aux tanoïdes :

Rhamnose	4,24 %
Fructose	12,50 %
Glucose.	2,02 %
Soit, sucres totaux	18,76 %

Au sujet de ces résultats, nous formulerons les mêmes réserves que nous avons déjà faites à propos des chiffres obtenus lors de l'hydrolyse de l'intrait.

c) Recherches analytiques.

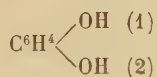
HYDRATATION DES TANOÏDES PAR LA POTASSE. — Nous avons répété la même expérience, déjà effectuée sur l'aglycone phlobaphénique des tanoïdes, avec les tanoïdes eux-mêmes, en procédant de façon identique.

Le résidu de la solution étherée étant plus considérable, nous avons pu identifier facilement l'acide protocatéchique par les réactions déjà citées.

La plus grande proportion d'acide protocatéchique ainsi obtenue coïncide avec la présence d'acide protocatéchique libre dans la liqueur d'hydrolyse et renforce l'opinion, déjà émise, que les tanoïdes de *Vinca minor* contiennent en leur molécule celle de l'acide protocatéchique.

DISTILLATION SÈCHE. — Quelques décigrammes de tanoïde sont soumis, dans un tube, à la distillation sèche. La masse devient rapidement noirâtre, s'agglomère en dégageant une forte odeur empyreumatique et on observe sur la paroi du tube incliné la formation d'une masse noire, sur les bords de laquelle on aperçoit quelques lamelles cristallines qu'on peut isoler en procédant avec précaution, par resublimation.

Leur point de fusion est 104° et les réactions de leur solution aqueuse permettent d'identifier la pyrocatechine :



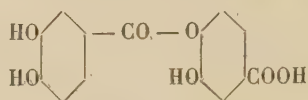
POUVOIR ROTATOIRE. — Une solution de tanoïdes à 3 % est lévogyre et montre une déviation de — 0°,2.

INCINÉRATION DES TANOÏDES. — Une certaine quantité des tanoïdes existe dans l'intrait sous forme dominante de sels de calcium, comme on s'en était aperçu au cours de l'hydrolyse. En effet, les tanoïdes laissent après calcination un résidu minéral de 5,8 %, composé presque exclusivement de chaux. Ce fait est intéressant et permet d'envisager les considérations théoriques suivantes.

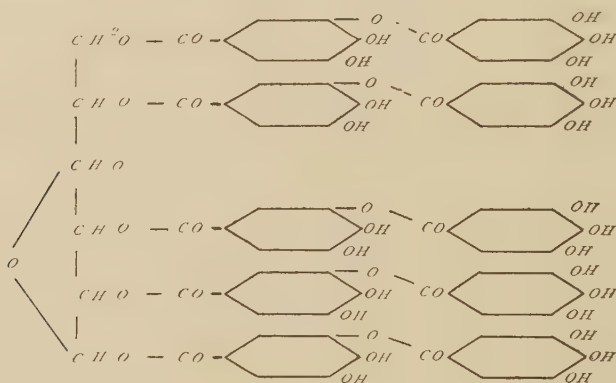
CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES. — Si l'ensemble des composés tanniques comporte, selon les désignations proposées par MM. PERROT et GORIS, des *tanoïdes*, c'est-à-dire des combinaisons de *tanides avec les hydrates de carbone*, il semble renfermer en outre une certaine quantité de *tanides à l'état de sel minéral*.

Il n'est, en effet, guère admissible que les molécules d'hydrates de carbone et de substance minérale soient uniformément réparties dans l'ensemble de la matière tanoïde. Théoriquement, les

groupes d'acides phénoliques enchainés entre eux, comme on les trouve dans les *depsides*, corps synthétisés par Emile FISCHER ⁽¹⁾ :

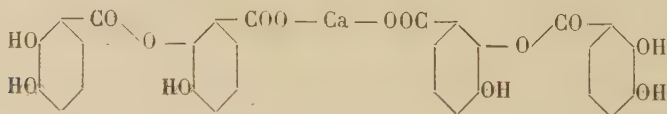


doivent être fixés aux *hydrates* de carbone par le groupe *carboxylique*, ainsi qu'il a été démontré, par exemple, dans le cas du penta-méta-digalloylglucose, contenu dans le tanin de la noix de galle de Chine, un des rares corps tanniques dont on ait pu établir la constitution chimique ⁽²⁾ et qu'on ait réussi à préparer par synthèse ⁽³⁾.



Ces corps ne sont pas aptes à former des sels.

Examinons, par contre, toujours théoriquement, le cas d'un tanide qui aurait la constitution des *depsides* ; la formation de sels s'explique facilement par fixation de la molécule de calcium au groupe carboxylique libre.



Comme, à l'heure actuelle, nous ne disposons pas encore de

1. Em. FISCHER. *Loc. cit.*
2. J. HERZIG. Zur Kenntnis des chinesischen Tannins. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1923, 56, p. 224.
3. E. FISCHER. Untersuchungen über Gerbstoffe und Depside. Berlin, 1919, p. 357.

moyens d'investigations analytiques suffisants pour déterminer la constitution des tanoïdes, nous avons essayé, par l'emploi de solvants alternés, de séparer grossièrement leurs constituants.

SÉPARATION DES TANOÏDES. — Voici la méthode qui nous a donné le meilleur résultat :

1° L'addition de deux volumes d'alcool à une solution aqueuse à 10 % des tanoïdes produit un précipité brun floconneux. On laisse déposer pendant une nuit et on filtre.

Le précipité, une fois sec, donne par trituration une poudre grisâtre, qui laisse à la calcination 18 % de cendres. Sa solution aqueuse est peu acide ; elle réduit à chaud la liqueur cupro-potassique et donne avec le perchlorure de fer une opalescence verte. Examinée au polarimètre à la lumière du sodium, elle n'accuse aucune déviation.

2° Le filtrat est additionné de nouveau de son volume d'alcool.

Il se forme un nouveau précipité floconneux qui, après dessiccation et trituration, est havane clair et contient 3,5 % de cendres. Sa solution aqueuse réduit la liqueur cupro-potassique à chaud, donne une opalescence et une coloration verte par le perchlorure de fer. En solution à 3 %, elle ne présente pas de rotation appréciable.

3° Le filtrat de l'opération précédente est d'abord distillé, ensuite évaporé au bain-marie, à la moitié de son volume initial. On ajoute six fois son volume d'alcool et il se forme de nouveau un précipité. Séché et trituré, il est jaune brun, hygroscopique et ne laisse pas de cendres en quantité dosable. Sa solution aqueuse réduit la liqueur cupro-potassique, se colore en vert par le perchlorure de fer et, en solution à 3 %, dévie à gauche de $-0^{\circ},04$, ce qui correspond à une rotation, pour toute cette fraction, de $-1^{\circ},3$.

4° Le filtrat précédent, évaporé, laisse un résidu jaune brun clair, qui ne contient plus de substance minérale. La solution aqueuse réduit facilement la liqueur cupro-potassique et donne avec le perchlorure de fer une coloration vert pur. Sa solution à 2 % provoque une déviation à gauche de $-0^{\circ},39$, ce qui correspond à un pouvoir rotatoire de -19° .

Les quantités de matière obtenues pour les quatre fractions successives sont dans le rapport approximatif de :

4 à 2, à 1, à 1.

Par suite de ces expériences, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° *La rotation étant due uniquement à la présence des sucres, les hydrates de carbone ne sont pas uniformément répartis dans l'ensemble des tanoïdes;*

2° *La matière minérale n'est pas non plus uniformément répartie dans l'ensemble de ces composés;*

3° *La quantité de sucre entrant dans la molécule des tanoïdes est inversement proportionnelle à la quantité de matière minérale présente.*

A la lumière de ces faits, il est en outre permis, pour appuyer notre exposé théorique initial, de faire les déductions suivantes :

Il semble que les tanides peuvent former des sels minéraux ou des éthers des hydrates de carbone; que la fixation de ces tanides au sucre peut remplacer la fixation à la chaux, et réciproquement, et ceci dans des proportions qui restent à définir.

Quant aux tanides libres, s'ils peuvent être présents dans la plante, il ne nous a pas été possible jusqu'ici de les isoler et de les identifier.

CHAPITRE IV

LE GLYCOSIDE

Après précipitation des tannoïdes de la solution d'intrait, par une solution d'acétate neutre de plomb, on obtient un liquide qui précipite à nouveau par l'addition d'une solution de sous-acétate de plomb. Le précipité qui était gris brun avec l'acétate neutre de plomb est jaune d'or avec le sous-acétate de plomb.

L'examen de ce nouveau précipité nous a démontré qu'il s'agissait d'un composé nettement différent du premier, de caractère glycosidique, qu'il était nécessaire d'isoler.

a) Préparation du glycoside.

50 gr. d'intrait sont dissous dans 200 cm³ d'eau et on ajoute à cette solution son volume d'une solution d'acétate neutre de plomb à 20 %, laisse déposer pendant une nuit et filtre. Le filtrat est additionné de 160 cm³ d'extrait de Saturne du Codex. Il se produit un abondant précipité jaune d'or, de contexture assez fine. On laisse déposer pendant une nuit et on filtre. Comme il est impossible de laver le précipité à fond sur le filtre même, on le disperse dans de l'eau distillée, laisse déposer, décante et répète cette opération jusqu'à ce que l'eau de lavage ne soit plus que faiblement colorée en jaune. On disperse de nouveau le précipité dans 250 cm³ d'eau, ajoute un peu d'alcool et décompose la combinaison plombique par un courant d'hydrogène sulfuré. La précipitation du sulfure de plomb terminée, le précipité est filtré et lavé à plusieurs reprises à l'eau chaude. On obtient ainsi une solution légèrement colorée en jaune, peu acide, et qui donne, avec le perchlorure de fer à 1 %, une coloration violette.

La solution est légèrement lévogyre ($\alpha = -0^{\circ},2$); elle réduit faiblement, après alcalinisation et à chaud, la liqueur cupropotassique.

Cette solution, après hydrolyse par l'acide sulfurique à 5 % sur le bain-marie, réduit immédiatement la liqueur cupro-potassique à chaud après alcalinisation.

Ces propriétés, qui indiquent nettement la présence d'un corps glycosidique, peuvent appartenir, soit à un tanoïde d'un caractère chimique différent de celui qui est précipitable par l'acétate de plomb, soit à un glycoside vrai.

Nous avons éprouvé de sérieuses difficultés pour préparer le glycoside à l'état de pureté, difficultés dues à son caractère chimique particulier, mais il serait oiseux d'exposer toutes les tentatives faites pour y arriver.

Pour préparer ce glycoside brut, nous avons évaporé la solution sur le bain-marie, puis séché le résidu à l'étuve, à 100°. Mais le corps ainsi préparé se colore, au cours de la dessiccation dans l'étuve, probablement par suite d'une oxydation. La matière obtenue par ce procédé se présente, après pulvérisation, sous la forme d'une poudre brunâtre, hygroscopique.

Un autre essai nous a donné un résultat plus satisfaisant. On évapore la solution au bain-marie, ou, mieux encore, sous pression réduite et on enlève, en ajoutant à plusieurs reprises un peu de benzène au résidu, l'eau qu'il peut encore contenir.

En procédant avec précaution, on obtient ainsi un corps jaunâtre et solide à la température du bain-marie. Ce corps brut, fortement hygroscopique, attire rapidement l'humidité de l'atmosphère en fonçant de couleur; il devient, au bout de quelques minutes, pâteux; il présente en somme les mêmes propriétés que celles qu'on avait déjà signalées pour l'intrait total et pour les tanoïdes.

PURIFICATION.

Voici comment nous avons finalement procédé, pour isoler ce corps à l'état de pureté.

On ajoute à la solution aqueuse concentrée 9 fois son volume d'alcool à 95°. Il se forme un précipité floconneux jaunâtre qui s'agglomère en devenant brunâtre. On laisse déposer une nuit et décante.

Le précipité repris dans l'eau donne une solution limpide, colorée en brun, neutre au tournesol, et qui se colore en brun verdâtre avec le perchlorure de fer à 1 %, réaction due aux matières tanoïdes qui accompagnent le glycoside.

Le liquide alcoolique précédent est filtré, de nouveau évaporé et repris par 10 fois son volume d'alcool à 95°; on ajoute au tout un dixième d'éther et on laisse déposer le précipité floconneux

brunâtre qui se forme et qui est constitué encore par des tanoïdes.

Le liquide filtré représente la solution alcoolique pure du glycoside.

On peut le précipiter de cette solution par addition d'éther, de benzène, d'acétone ou de chloroforme, mais les précipités floconneux, jaunâtres, qu'on obtient de la sorte, sont extrêmement difficiles à manier. Exposés à l'air, ils foncent rapidement en prenant l'humidité atmosphérique, ce qui laisse supposer que, quand il est anhydre, le glycoside s'oxyde facilement.

C'est finalement à l'évaporation au bain-marie et à la déshydratation par azéotropisme, que nous avons dû recourir pour préparer une quantité suffisante de ce corps, en vue de l'analyse. Par cette méthode, on obtient une substance à peine brunâtre, toujours fortement hygroscopique et qui ne se conserve qu'en tube scellé.

Toutefois, le glycoside n'est pas incristallisable. En précipitant par le chloroforme sa solution alcoolique, on obtient, après un séjour dans la glacière, un précipité composé de très fins cristaux, se présentant au microscope sous forme de *petites lamelles courtes, rectangulaires*; mais, au bout de quelques instants, ces cristaux fixent l'humidité atmosphérique et tombent en déliquescence.

b) Propriétés du glycoside.

Nous avons utilisé pour nos recherches le corps amorphe préparé par évaporation, et non pas les cristaux qu'on peut obtenir et qu'il est impossible pratiquement de manier.

Chauffée, cette substance brûle sans laisser de résidu appréciable.

POUVOIR RÉDUCTEUR. — La solution aqueuse réduit faiblement la liqueur cupro-potassique à chaud; après hydrolyse par l'acide sulfurique à 5 %, la réduction est immédiate à chaud.

POUVOIR ROTATOIRE. — Le pouvoir rotatoire d'une solution :

A 1 % était de — 0°,4

d'une solution :

A 1,2 % était de — 0°,45

et d'une solution :

A 0,135 % était de — 0°,5

Ce qui donne comme pouvoir rotatoire spécifique pour le corps amorphe hydraté :

— 38°,1 (moyenne des trois observations).

PERCHLORURE DE FER. — L'addition de quelques gouttes d'une solution de perchlorure de fer à 1 %, à la solution aqueuse du glycoside, produit une coloration violette intense et pure.

ACÉTATE DE PLOMB. — L'addition d'une solution d'acétate de plomb neutre ne donne pas de précipité; par contre, l'addition d'extrait de Saturne produit un précipité jaune clair.

LIQUEURS ALCALINES. — L'addition d'eau de baryte fonce la couleur de la solution aqueuse; en solution très diluée, le même liquide apparaît verdâtre, ou jaune verdâtre avec la lessive de potasse.

Si l'on superpose la solution alcoolique à de la lessive de potasse concentrée, on observe la formation d'une zone jaune brun, la liqueur alcoolique surnageante devenant verdâtre.

ACIDE SULFURIQUE FORMOLÉ. — Quelques milligrammes de glucoside dissous dans l'acide sulfurique formolé à 2 % (réactif sulfurique formolé), produisent une coloration brun rougeâtre.

c) Analyse du glycoside.

L'hydrolyse de la solution du glycoside par l'acide sulfurique est assez délicate à réaliser.

Quand on part d'une solution du glycoside à 1/2 %, l'hydrolyse par l'acide sulfurique à 3 % est complète après un chauffage d'une heure et demie. Quand la solution est plus concentrée, il

faut un chauffage plus long et l'hydrolyse n'est complète qu'après un contact de plusieurs heures. Nous avons utilisé une solution à 1 %, additionnée d'acide sulfurique à 3 %; l'hydrolyse est complète après chauffage au bain-marie pendant trois heures. On ne saurait dépasser ni cette concentration, ni la température du bain-marie, pour éviter une condensation de l'aglycone formé. De même, en solution alcoolique, l'hydrolyse est trop énergique et conduit à la condensation de l'aglycone produit.

Dans les conditions décrites, il ne se forme pas d'aglycone insoluble et l'aglycone produit s'obtient en épuisant à plusieurs reprises par l'éther la liqueur d'hydrolyse non neutralisée.

L'AGLYCONE. — Le résidu de l'évaporation de cette solution éthérée, préalablement séchée avec soin, est composé de petits cristaux, en forme de rosaces, et faiblement coloré en jaune. On le purifie par lavage au chloroforme; puis, on reprend par un peu d'éther anhydre et évapore de nouveau. On obtient ainsi des cristaux presque incolores, affectant encore la forme de rosaces. Ils donnent les réactions suivantes :

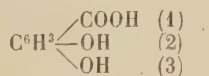
Peu solubles dans l'eau froide; par refroidissement de leur solution aqueuse bouillante, ils cristallisent lentement en fines aiguilles, le plus souvent groupées en rosettes.

Ils fondent à 202°.

Insolubles dans le chloroforme, ils sont solubles dans l'alcool fort.

Leur solution aqueuse est acide; l'addition de quelques gouttes d'une solution de perchlorure de fer à 1 % la colore en bleu pur; en alcalinisant par une solution de carbonate de soude à 2 %, la coloration vire au rouge rubis. L'eau de brome n'y produit pas de précipité. L'acétate de plomb neutre y donne un précipité jaunâtre, soluble dans l'acide acétique faible. La solution aqueuse ne présente pas d'action sur la lumière polarisée.

Ces réactions identifient l'aglycone avec l'*acide pyrocatéchine-carbonique*, ou *acide 2-3-dioxybenzène-carbonique*, corps qu'on n'a pas encore signalé dans les végétaux.



Micro-combustion : 3 milligr. 975 de substance ont fourni

8 milligr. 025 CO² et 1 milligr. 585 H²O, ce qui correspond à :

	TROUVÉ °/o		CALCULÉ pour C ⁷ H ¹⁰ O ⁴ °/o
C.	55,05	C.	54,61
H.	4,42	H.	3,89
O (par différence) . .	40,53	O.	41,56

HYDRATES DE CARBONE. — Nous exposons ici les résultats que nous avons obtenus, mais en dépit des soins qu'ils nous ont coûté, nous ne nous faisons pas d'illusions sur leur exactitude; elle ne peut être que limitée, en raison même des quantités de matières et des méthodes dont nous avons pu disposer.

La solution aqueuse du glycoside à 1 °/o présente, après hydrolyse, un pouvoir rotatoire dextrogyre $\alpha = +0^{\circ},3$. La quantité de sucre réducteur qu'elle contient à ce moment, déterminée par la liqueur cupro-potassique, correspond (moyenne de 4 déterminations) à 0,578 °/o exprimé en glucose (*0 gr. 578 pour 1 gr. de glycoside*).

Si on soumet cette même solution (débarrassée de l'acide sulfurique) à la fermentation par la levure de bière, on obtient au bout de trois heures à 35°, 0,280 °/o de sucres non fermentescibles dans ces conditions.

La solution des sucres, traitée par l'acétate de phénylhydrazine (formule de DENIGÈS) au bain-marie, donne un mélange de deux osazones, dont l'une correspond à la rhamnosazone (P. F. 182°, forme cristalline, solubilité dans l'acétone, l'alcool méthylique, recristallisation dans le benzène), et dont l'autre correspond à la glucosazone (P. F. 210°, forme cristalline, insolubilité dans l'alcool méthylique et acétone).

Des résultats de l'hydrolyse, on peut conclure à la présence du glucose comme unique hexose; et à la présence, en quantités sensiblement égales, de rhamnose et glucose entrant dans la composition du glycoside.

Micro-combustion du glycoside : 3 milligr. 870 de substance ont fourni 5 milligr. 420 CO² et 1 milligr. 985 H²O, ce qui correspond à :

	TROUVÉ °/o		CALCULÉ pour C ¹⁰ H ²⁰ O ¹³ + 7 H ² O °/o
C.	38,20	C.	38,77
H.	5,70	H.	6,80
O (par différence) . .	56,10	O.	54,42

Ces chiffres correspondent donc à un glycoside composé de 1 mol. acide pyrocatéchinecarbonique + 1 mol. glucose + 1 mol. rhamnose, renfermant, dans sa forme amorphe, employée pour l'analyse, 7 mol. H₂O.

La quantité de glucides qu'implique cette formule correspond au chiffre du dosage des monosaccharides.

La rotation spécifique pour le glycoside anhydre est ($-38^{\circ},1$ pour le corps amorphe) :

$$\alpha_D = -49^{\circ},4.$$

NOTA. — Au moment où notre travail était déjà à l'impression, est paru dans le *Bulletin de la Soc. de Chim. biologique* un mémoire de MM. J. VINTILESCO et N. J. JOANID : « Sur les glucides de quelques espèces du genre *Vinca* et sur les variations de leurs proportions au cours de la végétation » (1), dans lequel les auteurs ont étudié les quantités de glucides contenus dans *Vinca major*, *V. minor* et *V. herbacea*, en utilisant la plante sèche (pour *V. minor*) et la méthode biochimique de BOURQUELOT. Ils ont trouvé que la Petite Pervenche contenait 3 gr. 6 de sucres totaux pour 100 gr. de feuilles séchées, ce qui correspond d'ailleurs à nos propres expériences. Ils ont en outre isolé du *Vinca herbacea*, avec deux autres principes hydrolysables, un glycoside précipitable par le sous-acétate de plomb, qui présente certaines analogies avec celui que nous avons isolé du *Vinca minor*.

1. *Bull. Soc. Chim. biol.*, Paris, octobre 1932, 14, n° 8.

CHAPITRE V

FRACTION DE L'INTRAIT NON PRÉCIPITABLE PAR LES SELS DE PLOMB

Après séparation des précipités produits par l'addition successive des solutions d'acétate neutre et de sous-acétate de plomb, on obtient un liquide brunâtre, qui est traité par l'hydrogène sulfuré pour le débarrasser de l'excès de plomb qu'il contient encore. Quand la totalité du plomb est éliminée sous forme de sulfure, on filtre et lave le précipité à plusieurs reprises à l'eau chaude. On obtient ainsi un filtrat faiblement coloré en jaune, qu'on peut décolorer presque complètement, et en même temps débarrasser de l'excès d'hydrogène sulfuré, par digestion au bain-marie en présence d'un peu de noir animal et de poudre de zinc.

La solution contient une certaine quantité d'acide acétique, provenant de l'excès des sels de plomb utilisés. Elle peut en outre contenir :

- a) Des glycosides non précipitables par l'acétate neutre ou le sous-acétate de plomb;
- b) Des alcaloïdes, qui, combinés aux tanoïdes, n'auraient pas donné auparavant de précipité avec le réactif de MAYER-VALSER;
- c) Des hydrates de carbone, contenus dans l'intrait à l'état de liberté, c'est-à-dire non combinés;
- d) Des substances minérales non combinées avec l'ensemble des tanoïdes.

Pour savoir à quoi nous en tenir, nous avons fait les essais suivants :

POUVOIR RÉDUCTEUR. — La solution alcalinisée réduit immédiatement la liqueur cupro-potassique à chaud; elle doit par conséquent contenir un corps réducteur, probablement un hydrate de carbone.

Le titrage effectué par décoloration de la liqueur cupro-potassique démontre que le pouvoir réducteur est le même, avant et

après un chauffage de la solution additionnée de 5 % d'acide sulfurique, pendant quatre heures au bain-marie. La solution ne contient donc pas d'hydrates de carbone combinés, ni de substances glycosidiques.

POUVOIR ROTATOIRE. — La solution est faiblement lévogyre; l'essai d'hydrolyse ne change pas son pouvoir rotatoire.

RECHERCHE DES ALCALOÏDES. — Ni le réactif de MAYER-VALSER, ni les autres réactifs spécifiques des alcaloïdes ne donnent une réaction positive avec la solution.

On peut admettre que les alcaloïdes éventuellement présents existent sous forme d'une combinaison avec un glucide, car on connaît des hétérosides d'alcaloïdes, on a même effectué la synthèse de certains d'entre eux ⁽¹⁾, mais un essai d'hydrolyse nous a démontré qu'il n'en était rien dans le cas présent, et l'essai par les réactifs spécifiques a affirmé de nouveau l'absence de corps alcaloïdiques.

On peut encore admettre le cas d'un alcaloïde fixé à un tanoïde ou à un glycoside et précipitable sous cette forme par les sels de plomb.

Nous avons répété les réactions spécifiques des alcaloïdes sur la liqueur résultant de l'hydrolyse de l'intrait total. Cette fois, on observe dans la solution débarrassée de l'acide sulfurique un trouble par addition du réactif de MAYER-VALSER et du réactif silicotungstique. On a essayé d'isoler cette substance azotée en passant par la combinaison silicotungstique, mais la quantité de produit obtenu en partant de 50 gr. d'intrait était absolument insignifiante. Toutefois, s'il existe dans l'intrait de la Petite Pervenche une substance azotée possédant les réactions des alcaloïdes, nous n'oserons pourtant pas la considérer comme un alcaloïde. La quantité trop minime ne permet d'ailleurs pas d'approfondir davantage le caractère chimique de ce corps.

DOSAGE DES MATIÈRES MINÉRALES. — 100 cm³ de la solution (volume total 450 cm³), évaporés ont laissé, après incinération, un résidu minéral qui pesait 0 gr. 722, soit 3 gr. 25 pour 50 gr. d'intrait, ce qui correspond à 6,5 % de l'intrait.

1. J. LEMETTRE. Sur quelques hétérosides d'alcaloïdes. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*. Lille, mars 1932.

RECHERCHE DES HYDRATES DE CARBONE. — Pour obtenir une solution pure des hydrates de carbone, il a été procédé comme nous l'avons décrit plus haut à propos de l'intrait et lors de l'hydrolyse de celui-ci.

Le résidu sirupeux des glucides provenant de 50 gr. d'intrait et pesant 2 gr. 20 fut dissous dans 100 cm³ d'eau.

Les réactions effectuées ont démontré la présence : d'un méthylpentose, identifié par son osazone comme étant le rhamnose, et d'hexoses identifiés par leur osazone comme étant soit le fructose, soit le glucose, ou les deux glucides ensemble.

La solution des glucides possède un pouvoir rotatoire de $-1^{\circ},2$ et le dosage par la liqueur cupro-potassique donne une teneur de 0,930 % de glucides, calculé comme glucose anhydre.

DOSAGE DU RHAMNOSE. — Le titrage de la solution après fermentation par la levure de bière pendant trois heures, à une température de 35°, démontra la présence de 0,315 % d'un sucre non fermentescible dans ces conditions, correspondant à 0,315 % de rhamnose calculé comme glucose, soit 0,321 de rhamnose.

DOSAGE DU FRUCTOSE. — Si on déduit la rotation due au rhamnose, on arrive à une déviation restant pour la solution des hexoses de $-0^{\circ},138$, pour une concentration d'hexoses de 0,612 %, c'est-à-dire à un pouvoir rotatoire spécifique de $-90^{\circ},3$, ce qui est assez près du pouvoir rotatoire spécifique du fructose ($-93^{\circ},0$) pour pouvoir admettre qu'il s'agit dans ce cas uniquement du fructose. On trouve alors dans la solution 0,615 % de fructose calculé comme glucose, soit 0,633 % de fructose.

Si on calcule ces chiffres pour l'intrait total, ils montrent que celui-ci contient :

Rhamnose libre	0,642 %
Fructose libre	1,266 %
Soit, hydrates de carbone libres . . .	1,908 %

alors que l'intrait ne semble pas contenir de glucose non combiné.

TROISIÈME PARTIE

ÉTUDE CHIMIQUE DU RÉSIDU DU LAVAGE DE L'INTRAIT PAR L'ÉTHÉR

L'éther employé lors du lavage de l'intrait pour enlever à celui-ci la chlorophylle ainsi que les substances résineuses et cireuses, est susceptible de dissoudre encore d'autres corps, dont la solubilité dans l'éther est plus grande que la solubilité dans l'eau.

Le résidu résultant de l'évaporation de cette solution éthérée se présente sous forme d'un liquide sirupeux, fortement coloré en brun verdâtre, et possédant une odeur particulière, très désagréable, provoquant la céphalée. La réaction au tournesol est franchement acide.

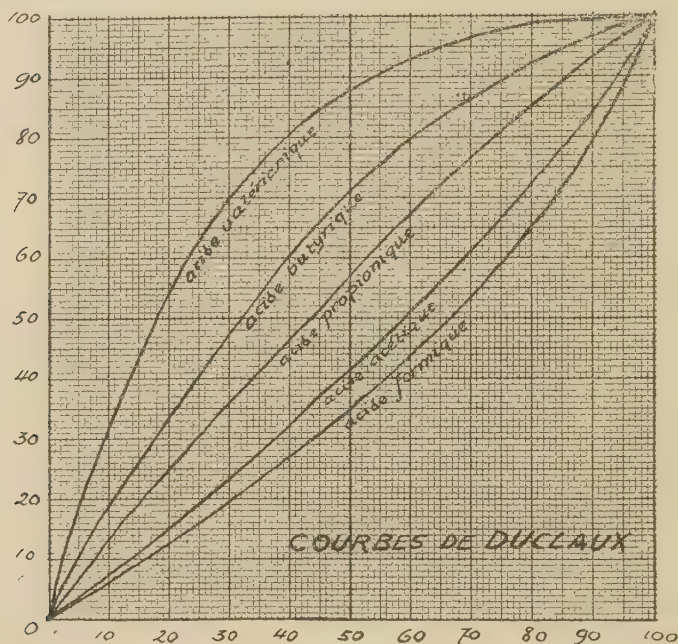
a) Acides aliphatiques.

En vue de séparer les acides aliphatiques, probablement présents, nous avons eu recours à la distillation avec entraînement par la vapeur d'eau. Pour l'identification de ces acides, la méthode de DUCLAUX semble la seule qui puisse donner un résultat certain. Cette technique, qui paraît au premier abord pénible, est d'une grande exactitude, d'une facile interprétation et, en même temps, d'une grande sensibilité.

Cette méthode est basée sur le fait qu'une solution aqueuse d'un de ces acides volatils, soumise à la distillation, montre une diminution de l'acidité restante caractéristique pour chaque acide, qui trouve son expression dans une courbe également caractéristique pour chaque acide et qui peut servir à son identification. En pratique, il suffit de titrer l'acidité des frac-

tions de même volume successivement distillées pour obtenir cette courbe.

DUCLAUX a établi les courbes en titrant l'acidité de chaque fraction de 10 cm³ distillée et distillant au total 100 cm³ pour un volume initial de 100 cm³.



COURBE 1.

Dans le cas de deux acides mélangés, chaque acide se comporte comme s'il était seul, les chiffres de la courbe exprimant ainsi la moyenne arithmétique des proportions des acides mélangés.

On trouve la plupart des chiffres correspondant aux mélanges des différents acides dans les tables de DUCLAUX ⁽¹⁾ et on identifie un mélange d'acides inconnus, en des proportions inconnues, en comparant les chiffres obtenus avec les chiffres des tables de DUCLAUX.

Nous avons donc prélevé une partie de l'extrait éthéré, nous l'avons placé dans un ballon, ajouté de l'eau pour avoir un liquide moins épais et éviter ainsi les soubresauts, et nous

1. DUCLAUX. Traité de Microbiologie. Paris, 1900, III, p. 385-395.

l'avons soumis à la distillation par entraînement à la vapeur d'eau, réglée de façon d'avoir toujours le même niveau dans le ballon contenant la solution à distiller.

Le distillat est, surtout au commencement, un peu laiteux, et à sa surface nagent quelques gouttelettes huileuses.

La neutralisation de 10 cm³ prélevés sur la totalité du distillat, en présence de la phtaléine du phénol comme indicateur, nécessite :

5 cm³ 2 de NaOH N/10.

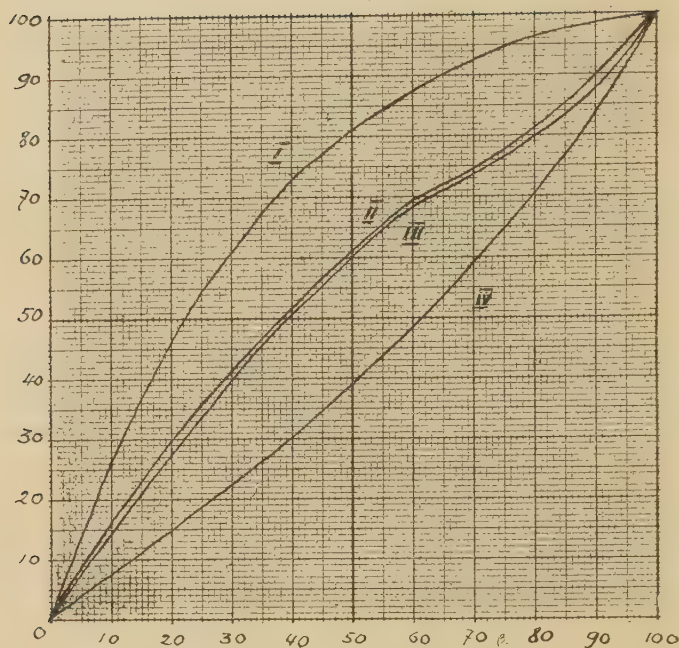
Pour séparer autant que possible les divers acides volatils éventuellement présents, on divise la totalité de la solution en deux parties par distillation, et on partage ensuite chaque moitié encore une fois, de nouveau par distillation. Le titrage de ces quatre fractions donne les résultats suivants :

Première fraction	9 cm ³ , 2	NaOH N/10
Deuxième fraction	2 cm ³ , 4	NaOH N/10
Troisième fraction	2 cm ³ , 7	NaOH N/10
Quatrième fraction	6 cm ³ , 5	NaOH N/10

Ces chiffres démontrent que l'acidité la plus élevée, et, en conséquence, la plus forte quantité d'acides, se trouve dans les fractions de tête et de queue.

Pour connaître la nature des acides mélangés, nous avons employé pour chaque fraction la méthode de DUCLAUX. Les titrages ont été effectués avec une solution de soude en présence de la phtaléine de phénol comme indicateur.

Voici maintenant les courbes obtenues pour chacune des quatre fractions.



COURBE 2.

INTERPRÉTATION DES COURBES.

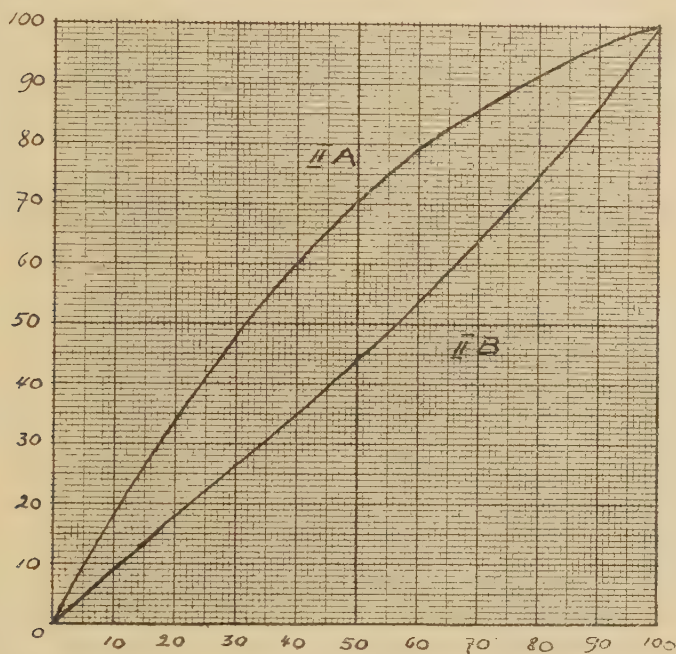
Première fraction. — La courbe de la première fraction n'admet qu'une seule interprétation: c'est la courbe obtenue par un mélange de 2 parties d'acide valérianique avec 1 partie d'acide butyrique, ce qui ressort clairement de la comparaison des chiffres obtenus avec les chiffres de DUCLAUX.

$$\frac{2 \text{ valérianique} + 1 \text{ butyrique}}{3}$$

	CHIFFRES obtenus	CHIFFRES des tables
10	25,9	26,2
20	46,5	46,5
30	61,5	62,2
40	73,7	74,0
50	81,8	82,5
60	89,0	88,8
70	93,5	"

Deuxième et troisième fractions. — Les courbes de la deuxième

fraction et de la troisième, presque identiques, montrent la double courbure, explicable par la présence d'un mélange d'acide butyrique et d'acide acétique. Comme dans le cas d'un mélange de trois acides, la courbure peut cacher une portion d'acide propionique, nous avons de nouveau divisé la deuxième fraction et la troisième par distillation en deux parties égales.



COURBE 3.

Deuxième fraction :

Les deux courbes ainsi obtenues s'expliquent parfaitement, la première par un mélange de 9 parties d'acide butyrique, la deuxième par un mélange de 1 partie d'acide propionique avec 3 parties d'acide acétique, comme le démontre la correspondance des chiffres obtenus avec les chiffres de DUCLAUX :

$$\frac{9 \text{ butyrique} + 1 \text{ propionique}}{10}$$

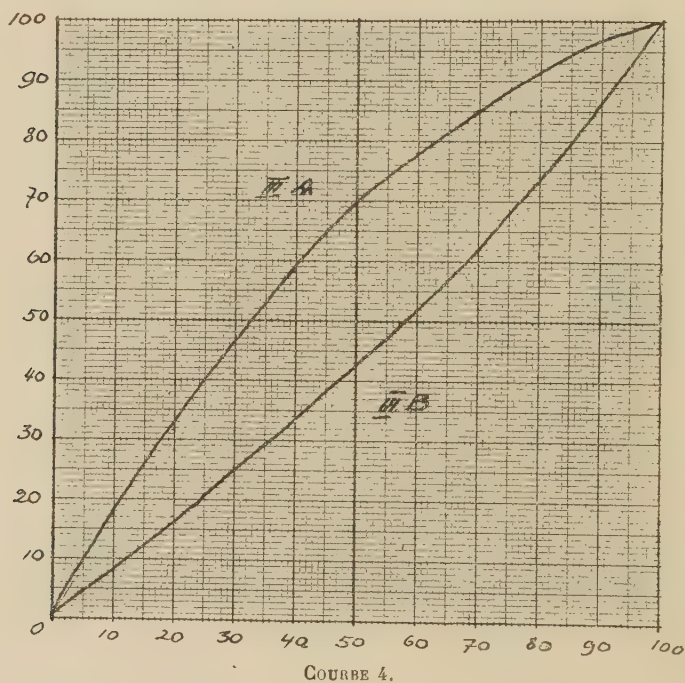
	CHIFFRES obtenus	CHIFFRES des tables
20	32,3	32,6
30	46,3	46,3
40	58,9	58,6
50	69,0	69,2
60	77,9	78,2
70	84,7	85,4
80	91,4	91,7

1 propionique + 3 acétique.

4

	CHIFFRES obtenus	CHIFFRES des tables
10	8,8	»
20	17,5	»
30	26,3	26,4
40	35,0	35,5
50	44,1	44,9
60	53,6	54,3
70	63,7	64,7
80	74,8	75,2
90	86,0	»

Troisième fraction. — De même, les deux parties de la troisième fraction ont donné lieu aux courbes suivantes, analogues aux courbes ci-dessus :



Ces deux courbes ne trouvent également qu'une seule explication : la première concordant avec celle d'un mélange de 9 parties d'acide butyrique avec une partie d'acide propionique, la seconde avec celle d'un mélange de 7 parties d'acide acétique

avec 1 partie d'acide propionique. Les chiffres démontrent la correspondance avec les chiffres de DUCLAUX.

9 butyrique + 1 propionique
10

	CHIFFRES obtenus	CHIFFRES des tables
10	17,1	»
20	32,5	32,6
30	46,2	46,3
40	58,5	58,6
50	69,3	69,2
60	77,8	78,2
70	84,5	85,4
80	91,7	91,7
90	»	»

7 acétique + 1 propionique
8

	CHIFFRES obtenus	CHIFFRES des tables
10	»	»
20	16,8	16,3
30	25,2	24,9
40	33,6	33,8
50	42,6	42,9
60	51,7	52,3
70	61,7	62,0
80	72,5	73,1
90	»	»

Quatrième fraction. — La courbe de la quatrième fraction n'admet qu'une seule interprétation : c'est la courbe résultant d'un mélange de 9 parties d'acide acétique avec 1 partie d'acide formique, ainsi que le démontrent les chiffres :

9 acétique + 1 formique
10

	CHIFFRES obtenus	CHIFFRES des tables
10	»	»
20	15,7	15,0
30	23,7	23,0
40	32,0	31,4
50	40,4	40,2
60	49,4	49,8
70	60,6	60,1
80	70,9	71,1
90	83,2	83,9

Les courbes de DUCLAUX ont donc permis d'affirmer la présence des acides suivants :

Acide valérianique,
Acide butyrique,
Acide propionique,
Acide acétique,
Acide formique.

Le titrage de l'acidité de chaque fraction et demi-fraction permet de calculer le poids de chaque acide présent :

Acide valérianique.	4 gr. 43
Acide butyrique.	3 gr. 84
Acide propionique.	0 gr. 38
Acide acétique	3 gr. 34
Acide formique	0 gr. 28
Soit, en tout.	12 gr. 27 d'acides.

Il est à souligner que, seule, cette méthode de DUCLAUX pouvait permettre de prouver la présence de cette faible quantité d'acide propionique.

En ajoutant les résultats à la totalité de la matière employée, nous arrivons aux résultats suivants :

Pour cette expérience, nous avons prélevé 100 gr. de résidu étheré, soit environ la moitié de la quantité provenant du traitement de 4 K^{os} d'intrait, qui correspondent à 24 K^{os} de plante fraîche. La quantité de ces acides présents dans la plante fraîche est donc de :

12 gr. pour 12 K^{os}, soit environ 1/1.000.

Malgré les grandes probabilités apportées par l'application de la méthode de DUCLAUX, nous avons jugé nécessaire de vérifier, par des réactions spéciales, la nature de ces acides.

Pour obtenir les acides, on réunit toutes les fractions et on les sature exactement par la soude. Le liquide neutralisé est évaporé à feu nu et ensuite au bain-marie. Pour mettre les acides en liberté, on ajoute à la masse presque sèche de l'acide phosphorique; ensuite ils ont été repris par l'éther. La solution étherée, soigneusement séchée, est évaporée dans le ballon de LADENBURG, puis le résidu acide est soumis à la distillation fractionnée.

Les proportions des volumes obtenus par distillation se répartissent ainsi :

TEMPÉRATURE	VOLUME
100°	0,5
100°-120°	1,5
120°-165°	3,0
165°-185°	3,0

Dans ces fractions, nous avons identifié les acides d'après leurs points d'ébullition, qui sont respectivement :

Pour l'acide formique	99°
Pour l'acide acétique	119°
Pour l'acide propionique	142°
Pour l'acide butyrique normal	163°
Pour l'acide iso-valérianique	176°

Ensuite, nous avons procédé aux quelques réactions suivantes sur les acides purifiés (à l'exception de l'acide propionique, dont la quantité était insuffisante).

ACIDE FORMIQUE. — La solution aqueuse réduit le nitrate d'argent et il se forme un miroir d'argent métallique.

L'acide formique réduit le bichlorure de mercure en chlorure mercurieux et, par un chauffage prolongé, en mercure métallique.

L'acide libre possède une odeur piquante.

ACIDE ACÉTIQUE. — La solution aqueuse est colorée en rouge sang par le perchlorure de fer.

Chauffé avec de l'alcool et de l'acide sulfurique concentré, le mélange dégage l'odeur d'éther acétique.

Le sel sodique chauffé avec de l'anhydride arsénieux dégage l'odeur caractéristique du cacodyle.

ACIDE BUTYRIQUE NORMAL. — L'acide libre possède une odeur caractéristique désagréable.

L'addition de perchlorure de fer provoque dans la solution du sel sodique neutre, un précipité floconneux abondant, jaune brunâtre, qui se redissout dans un excès de réactif.

Le sel de calcium est plus soluble à froid qu'à chaud.

ACIDE ISOVALÉRIANIQUE. — L'acide libre possède une odeur caractéristique.

Dans la solution du sel sodique neutre, le perchlorure de fer

produit un précipité grenu, jaunâtre, soluble dans un excès de réactif.

Il est remarquable que la plante stabilisée de *Vinca minor* contient la même série d'acides aliphatiques, que M. FOURTON ⁽¹⁾ a déjà signalée dans la Digitale stabilisée et dont le mélange constituait l'acide antirrhinique des anciens auteurs. Il serait intéressant de savoir si précisément cette même série d'acides ne se rencontrerait pas dans toutes les plantes stabilisées et ne constituerait pas des éléments normaux du métabolisme des plantes, cas auquel ils s'y retrouveraient constamment avec des variations correspondantes aux conditions végétatives de la plante vivante. Mais ceci ne saurait apparaître qu'après un nombre suffisant de résultats concordants.

b) Acide pyrocatéchine-carbonique.

Le liquide, restant dans le ballon après la distillation des acides aliphatiques par entraînement à la vapeur d'eau, s'était séparé en deux couches, une couche supérieure aqueuse, fortement colorée en brun, et l'autre, prise en masse noirâtre, collante. La couche aqueuse, présentant encore une forte acidité, devait donc contenir encore un ou plusieurs acides non volatils.

On concentre ce liquide au bain-marie et on l'épuise à plusieurs reprises par l'éther. Après distillation de la solution étherée, il reste un sirop brunâtre qui, abandonné au repos pendant deux jours, se prend entièrement en une masse cristalline formée de fines aiguilles. L'amas cristallin est lavé par le chloroforme, dans lequel il est presque insoluble, puis on le sèche sur une plaque poreuse.

Les cristaux se présentent au microscope sous forme de longues aiguilles fines, presque incolores, pour la plupart groupées en rosettes.

Ils sont facilement solubles dans l'éther et, après recristallisation, affectent la forme de rosaces.

Ils sont solubles dans l'alcool, peu solubles dans l'eau froide, plus solubles dans l'eau bouillante, de laquelle ils recristallisent, par refroidissement, en fines aiguilles.

1. André FOURTON. Sur les acides de la Digitale. *Thèse Doct. Univ. (Pharmacie)*, Paris, 1929, p. 65-67.

La solution aqueuse est acide.

L'addition de perchlorure de fer dilué, à la solution aqueuse, produit une coloration bleue qui, par l'addition d'une solution de carbonate de soude, vire au rouge rubis.

L'eau de brome ne provoque pas de précipité dans la solution aqueuse.

L'acétate neutre de plomb produit un précipité jaunâtre.

Le point de fusion des cristaux purifiés est de 202°.

Ces réactions permettent d'identifier l'acide pyrocatéchine-carbonique, que nous avons déjà trouvé comme aglycone du glycoside.

La quantité d'acide pyrocatéchine-carbonique libre ainsi obtenu peut être évaluée, en tenant compte des pertes inévitables, à environ 1 gr., ce qui correspond à 0,80 ‰ de la plante fraîche.

c) Acide succinique.

La solution aqueuse, après épuisement par l'éther, montrait encore une certaine acidité. Comme le perchlorure de fer ne produisait plus de coloration appréciable, on était contraint d'admettre la présence d'un acide non entraînable par la vapeur d'eau et plus soluble dans l'eau que dans l'éther.

L'acétate neutre de plomb provoque encore un précipité et la solution de nitrate d'argent un trouble. On pouvait être en présence soit de l'acide malique, soit de l'acide succinique libre, dont la présence dans les plantes fraîches a été maintes fois signalée.

Pour retirer cet acide, on évapore la solution aqueuse et on l'épuise à plusieurs reprises par l'alcool chaud, jusqu'à ce que la solution alcoolique ne soit plus acide au tournesol. On l'évapore et reprend par l'eau, et précipite ensuite par l'acétate de plomb neutre. Le précipité brun grisâtre, granuleux, est recueilli sur un filtre, lavé et décomposé par l'acide sulfurique dilué, sans excès. On filtre et évapore la solution aqueuse. Le résidu, presque sec, est traité à plusieurs reprises par l'éther bouillant. La solution éthérée laisse ensuite, après évaporation, une petite quantité de cristaux, qui se présentent au microscope sous forme de prismes courts quadrangulaires.

Ils montrent les caractères suivants :

Leur point de fusion dans l'appareil de THIELE est de 185°; à

partir de 100° environ, les cristaux commencent à se sublimer sans décomposition.

L'addition d'une solution de nitrate d'argent à la solution aqueuse produit un précipité, soluble dans l'ammoniaque.

L'acétate de plomb donne lieu à la formation de quelques cristaux, qui se déposent lentement au fond du tube.

L'acide nitrique concentré n'altère pas les cristaux, même à l'ébullition.

Le perchlorure de fer produit, dans une solution du sel ammoniacal, un précipité ocreux.

Réaction de NEUBERG⁽¹⁾ : on évapore au bain-marie un peu de la solution, sursaturée par l'ammoniaque, on place le sel ammoniacal dans un petit tube avec un peu de poudre de zinc et on introduit dans la partie supérieure un copeau de sapin imbibé d'acide chlorhydrique. En chauffant, le copeau se colore en rouge (réaction du pyrrol).

Toutes ces réactions identifient l'acide succinique, présent en faible quantité.

d) Phytostérol.

Le liquide restant dans le ballon, après la distillation par entraînement à la vapeur d'eau, s'était séparé en deux couches, une couche supérieure aqueuse, dont nous avons pu extraire et identifier l'acide pyrocatéchine-carbonique et l'acide succinique, et une couche inférieure, prise en masse visqueuse, fortement colorée en brun, possédant une odeur aromatique; celle-ci devait contenir les corps résineux, les cires végétales et la chlorophylle.

Par extraction au moyen de chloroforme, on obtient une solution d'un beau vert, qui laisse un résidu visqueux par évaporation. Il était susceptible de contenir, avec la chlorophylle, du carotène, analogue à celui retiré par ARNAUD⁽²⁾ des feuilles de *Vinca major*.

La réaction spécifique du carotène est la belle coloration bleue obtenue par addition d'acide sulfurique. Or, il s'est produit ici une coloration rouge sang.

1. MERCK'S Reagenzienverzeichnis. Berlin, 1918, p. 185.

2. A. ARNAUD. Recherches sur la carotène; son rôle physiologique probable dans la feuille. C. R. Ac. Sc., 1899, 109, p. 911.

Il fallait conclure à l'absence de carotène dans les feuilles de la *Petite Pervenche*.

La belle coloration verte du résidu indique nettement la présence de chlorophylle.

Enfin, le résidu était susceptible de contenir un phytostérol. La réaction de LIEBERMANN, effectuée sur ce résidu, était bien positive, mais pour avoir une certitude de la présence de ces corps, nous avons employé la méthode suivante, pour l'indication de laquelle nous remercions M. le D^r P. BOURCET.

10 gr. de la masse visqueuse sont dissous dans l'alcool à 95°. On ajoute un excès de lessive de soude et évapore sur le bain-marie. Pour obtenir une masse compacte, on ajoute du chlorure de sodium et, de cette manière, on réussit à obtenir une masse solide, qu'on peut facilement triturer dans un mortier. La poudre fine résultante est épuisée ensuite par l'éther bouillant. On filtre après refroidissement et sèche soigneusement la solution éthérée. Après évaporation, on obtient une masse visqueuse, colorée en brun, qui donne maintenant la réaction des phytostérols indiquée par LIEBERMANN. On ajoute à 3 ou 4 cm³ d'une solution chloroformée, 2 à 3 cm³ d'acide sulfurique concentré et quelques gouttes d'anhydride acétique. En agitant, la couche chloroformique se colore légèrement en rouge carmin, la couche sulfurique en rouge sang.

La solution chloroformique de phytostérol laisse, après évaporation libre, des cristaux, qui se présentent, au microscope, sous forme de plaques quadrangulaires, forme habituelle de cristallisation des corps de ce groupe.

Le point de fusion du phytostérol est de 133°.

Du résidu éthéré formé en majeure partie par le phytostérol, on peut retirer par l'éther de pétrole une petite quantité d'une essence, se présentant sous forme d'une masse visqueuse, possédant une forte odeur caractéristique, rappelant celle du thé. La faible quantité de ce corps ne nous a pas permis des recherches plus approfondies.

CONCLUSIONS

Pour les raisons que nous avons développées, la matière première, qui a semblé préférable pour l'étude chimique de la Petite Pervenche, est la plante stabilisée aux vapeurs d'alcool, selon les indications de MM. PERROT et GORIS, ou mieux, la forme extractive, dite « intrait ».

On peut ainsi résumer les résultats de notre étude :

1° L'intrait de la Petite Pervenche renferme une quantité considérable de tanoides, corps complexes, dépourvus de propriétés tannantes, dont la partie aglyconique, dénommée « tanide » et contenant le noyau de l'acide protocatéchique, se trouve, soit en combinaison avec des hydrates de carbone que nous avons identifiés, soit à l'état de sel minéral. L'hydrolyse par un acide minéral à chaud produit une matière phlobaphénique, contenant encore le noyau protocatéchique.

2° L'intrait renferme un hétéroside, cristallisable et lévogyre, pour lequel nous proposons le nom de *vincoside*, précipitable en solution aqueuse par le sous-acétate de plomb ; son aglycone, identifié comme étant l'acide pyrocatéchine-monocarbonique, est fixé au rhamnose et au glucose ; nous avons donné les caractéristiques physiques et chimiques de ces composés.

3° L'intrait contient des hydrates de carbone libres, et aussi des sels minéraux.

4° L'intrait ne contient pas de saponines ; il ne renferme pas d'alcaloïde en quantité suffisante pour permettre son dosage et

son identification dans les conditions où nous nous sommes trouvé.

5° La plante stabilisée renferme des acides formique, acétique, propionique, butyrique et iso-valérianique; de l'acide pyrocatechine-monocarbonique libre, de l'acide succinique, de la chlorophylle et un phytostérol.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,

Em. PERROT.

Vu : *Le Doyen de la Faculté,*

P. GUÉRIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ABDERHALDEN (E.) : Biochemischs Handlexikon. Berlin, 1910, VII, p. 793.
- ALEXANDRE (Dom Nicolas) : Dictionnaire botanique et pharmaceutique. Paris, 1759, p. 404.
- AQUAPENDENTE (H. F. D') : Œuvres chirurgicales. Lyon, 1658, p. 657.
- ARNAUD (A.) : Recherches sur la carotine; son rôle physiologique probable dans la feuille. *C. R. Ac. Sc.*, 1889, **109**, p. 911.
- BERG (A.) : Sur une réaction des sucres à fonction aldéhydique. *Bull. Soc. chim. de France*, 1904, (3), **31**, p. 1216.
- BERTRAND (G.) et THOMAS (P.) : Guide pour les manipulations de Chimie biologique. Paris, 1910, p. 80.
- BRAEMER (L.) : Les Tanoides. *Thèse dipl. sup. Pharm.*, Lyon, 1890, p. 175.
- BRISSEMORET (A.) : Sur une réaction colorée des tanoides. *Bull. Soc. chim. de France*, 1907, (4^e s), **1**, p. 474, et *Bull. Sc. pharmacol.*, 1907, **14**, p. 504.
- BUNGENBERG DE JONG (H.) : Contributions to the theory of vegetable tanning. *Rec. des Travaux chimiques des Pays-Bas*, 1923, **42**, p. 437.
- COSTAEUS (J.) : De Universale Stirpium Natura. Augustæ Taurinorum, 1578, p. 296.
- DEKKER (J.) : Die Gerbstoffe. Berlin, 1913, p. 387.
- DIOSCORIDE : Les six livres de PEDACION DIOSCORIDE, d'Anazarbe, de la matière médicinale, translatez du latin en françois, par D. Martin MATHEE, Lyon, 1859, livre IV, chap. 6; p. 343.
- DRÄGENDÖRFF (G.) : Die Heiplflanzen, Stuttgart, 1898, p. 539.
- DUCLAUX : Traité de Microbiologie. Paris, 1900, III, p. 385-395.
- FEHLING (H. von) : Neues Handwörterbuch der Chemie. Braunschweig, 1912, IX, p. 326.
- FISCHER (Em.) et TAFEL (J.) : Oxydation der mehrwertigen Alkohole. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1887, **20**, p. 1088.
- Ueber die Carbomethoxyderivate der Phenolcarbonsäuren und ihre Verwendung für Synthesen. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1908, **41**, p. 2875, et 1909, **42**, p. 215 et 1015.

FISCHER (Em.) et FREUDENBERG (K.) : *Id.*, *Liebigs Annalen*, 1909, **372**, p. 32, et 1911, **384**, p. 225.

— Untersuchungen über Gerbstoffe und Depside. Berlin, 1910, p. 357.

FOURTON (André) : Sur les acides de la Digitale. *Thèse Doct. Univ. (Pharmacie)*, 1929, p. 65-67.

FREUDENBERG (K.) : Nachweis, Isolierung, Aufbau- und Abbaustudien auf dem Gebiet der Gerbstoffes, dans : ABDERHALDEN : *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*. Berlin et Wien, 1920, Abt. I, Teil 10, p. 439-441.

FRIEBOES (W.) : Beiträge zur Kenntnis der Guajakpräparate. Stuttgart, 1903, p. 52.

FUCHS (L.) : *De Historia Stirpium Commentarii Insignes*. Lugduni, 1557, p. 196.

GORIS (A.) [Voir PERROT (E.) et —].

GRASSER (H.) : *Handbuch für gewerbereichemische Laboratorien*. Wien, 1929, p. 175.

HEGI (G.) : *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. München, 1924, V, (3), p. 2051.

HERZIG (J.) : Zur Kenntnis chinesischen Tannins. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1923, **56**, p. 221.

JOANID (N. J.) [Voir VINTILESCO et —].

KOFLER (L.) : *Die Saponine*. Wien, 1927, p. 8.

KOFLER (L.), FISCHER (R.) et NEWESELY (H.) : Über den Nachweis von Saponinen in Arzneimitteln. *Archiv der Pharmazie*, 1929, **267**, p. 685-699.

KUNKEL (H.) : *Handbuch der Toxikologie*. Jena. 1901, p. 918.

LECLERC (H.) : *Remèdes des champs et des bois*. Paris, 1926, p. 41.

LEMETTRE (J.) : Sur quelques hétérosides d'alcaloïdes. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Lille, mars 1932.

LOBEL (M. DE) [Voir PENA (P.) et —].

LUCAS (H.) : Über den Bitterstoff der Blätter von *Vinca minor* L. *Archiv der Pharmacie*, 1859, **147**, p. 147.

MERCK's Reagenzienverzeichnis. Berlin, 1903, p. 185.

MEYER (H.) : Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen. Berlin, 1903, p. 300.

NECKER (J. DE) : *Deliciae Gallo-Belgicae Silvestres*. Argentorati, 1768, p. 127

NIERENSTEIN (M.) : Chemie der Gerbstoffe. *Sammlung chem. techn. Vorträge*, 1910, p. 219.

OLLENDORFF (G.) [Voir KUFF (O.) et —].

OSHIMA (K.) et TOLLENS (B.) : Über Spektralreaktionen des Methylfurfurols. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1901, **34**, p. 1425.

PENA (P.) et LOBEL (M. DE) : *Stirpium Adversaria Nova*. Londini, 1570, p. 282.

PERROT (E.) et GORIS (A.) : La stérilisation des plantes médicinales et leur emploi thérapeutique. *Bull. Acad. Médecine*, 1909, (3^e série), **62**, p. 97.

- PERROT (E.) : Essai d'une terminologie des corps généralement désignés sous le nom « tanins ». *Bull. Sc. pharmacol.*, 1909, **16**, p. 189-191.
- PETIT (G.) : La petite pervenche et son action antihémorragique. *Courrier médical*, 1922, **47**, p. 541.
- PLANCHON (L.) : Produits fournis à la Matière Médicale par la famille des Apocynées. *Thèse Agrég.*, Montpellier, 1894, p. 275.
- PROCTER (H. R.) : The leather Industry Laboratory book. London, 1919, p. 157.
- et WILSON (J. A.) : The Acid-Gelatin Equilibrium. *Journ. Chem. Soc. of London*, 1916, **109**, p. 307-319.
- ROSENTHALER (L.) : Zum Nachweis von Methylpentosen und Pentosen. *Ann. der Chemie*, 1909, **48**, p. 169.
- RUFF (O.) et OLLENDORFF (G.) : Verfahren zur Reindarstellung und Erkennung von Zuckern. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1899, **32**, p. 3234.
- SPIGHEL (A.) : Isagoges in rem herbariam Libri duo. Patavii, 1606, p. 89.
- TAFEL (J.) [Voir FISCHER (Em.) et —].
- THOMS (H.) : Handwörterbuch für die wissenschaftliche und praktische Pharmazie. Berlin und Wien, V, 1924, p. 1471.
- TOLLENS (B.) [Voir OSHIMA (K.) et —].
- TOURNEFORT (PITTON DE) : Traité de Matière médicale. Paris, 1717, II, p. 145 et 299.
- VAN DER HAAR (A. W.) : Anleitung zum Nachweis, Trennung und Bestimmung von Monosacchariden. Berlin, 1920, p. 44, 134 et 172.
- VINTILESCO (J.) et JOANID (N. J.) : Sur les glucides de quelques espèces de plantes du genre *Vinca* et sur les variations de leurs proportions au cours de la végétation. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, **14**, n° 8.
- WASICKY (R.) : Lehrbuch der Physiopharmakognosie. Wien, I, 1929, p. 248.
- WEHMER (J.) : Die Pflanzenstoffe. Jena, II, 1931, p. 983.
- WIDTSON (J. A.) : Über den Tragantgummi und die Methylpentosen. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1900, **33**, p. 146.
- WILSON (J. A.) [Voir PROCTER (H. R.) et —].

